



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

EFFECTO EN LA FUNCION RENAL DEL
TRATAMIENTO DEL RECHAZO HUMORAL DEL
TRASPLANTE RENAL EN NIÑOS

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE SUB-ESPECIALIDAD EN
NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DRA. ROSALIA BRETON ALCANTARA

ASESOR DE TESIS:
DR. LUIS VELÁSQUEZ JONES

FEBRERO 2012





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.

DR. JAIME NIETO ZERMEÑO

DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADEMICO

DR. LUIS VELASQUEZ JONES



ASESOR DE TESIS

**EFFECTO EN LA FUNCION RENAL DEL TRATAMIENTO DEL RECHAZO
HUMORAL DEL TRASPLANTE RENAL EN NIÑOS**

INDICE

| | |
|---|-----------|
| AGRADECIMIENTOS | 5 |
| OBJETIVOS | 6 |
| ANTECEDENTES | 7 |
| PLANTEAMIENTO PROBLEMA | 17 |
| JUSTIFICACIÓN | 18 |
| HIPOTESIS | 19 |
| TIPO DE ESTUDIO | 21 |
| TAMAÑO DE LA MUESTRA | 21 |
| CRONOGRAMA | 22 |
| POBLACIÓN DE ESTUDIO | 23 |
| CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSION | 24 |
| DESCRIPCION DE LAS VARIABLES | 25 |
| MATERIAL Y METODOS | 26 |
| PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA | 27 |
| ASPECTOS ETICOS | 28 |
| RESULTADOS | 29 |
| DISCUSION | 32 |
| BIBLIOGRAFIA | 35 |
| ANEXOS | 38 |

AGRADECIMIENTOS:

DIOS:

POR QUE EN TU INFINITA MISERICORDIA ME HAS LLEVADO A UN DESTINO QUE NUNCA IMAGINE Y AL ENSEÑARME QUE EL PERDON ES LO MAS PRECIADO QUE TENEMOS

DR. LUIS VELASQUEZ JONES:

POR DARME UNA OPORTUNIDAD Y AYUDARME EN ESTA TAREA

DRA. MARA MEDEIROS

INVESTIGADORA INCANSABLE Y GRAN FUENTE DE INSPIRACION

DR. BENJAMIN ROMERO

POR LA CONFIANZA QUE HA TENIDO EN MI PERSONA Y SER UNA IMAGEN PATERNA

DR. SAUL TEODORO VALVERDE ROSAS

EJEMPLO DE SUPERACIÓN Y MAESTRO INCONDICIONAL

ESPERANZA FLORES GUZMAN:

ERES UN EJEMPLO DE VIDA, TRABAJO, FE, CONSTANCIA

ROSAURA ALCANTARA FLORES:

SIN TI NUNCA HUBIERA LLEGADO DONDE ESTOY

FRANCISCO BRETON TORRES:

EL HOMBRE MAS INTELIGENTE QUE HE CONOCIDO Y QUE MAS ME HA ENSEÑADO

MIS HERMANAS:

POR TODO EL AMOR Y APOYO QUE ME HAN DADO

LULU MARTINEZ:

POR SU AMISTAD INCONDICIONAL Y ENSEÑANZAS ESPIRITUALES

OBJETIVOS:

Objetivo General:

1. Evaluar el efecto en la función renal del tratamiento triple esquema en la función renal a un año en los pacientes con trasplante renal

Objetivos Específicos:

1. Investigar la presencia de factores condicionantes para el desarrollo de rechazo humoral
2. Identificar eventos posteriores al rechazo humoral que tengan efecto sobre la función renal

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El papel de los anticuerpos en el rechazo de órganos trasplantados fue motivo de debate desde los primeros años de los trasplantes con Peter Gorer el cual demostró el rol de los anticuerpos y Peter Medwed el cual demostró la inmunidad mediada por células. Después de la muerte de Gorer el concepto de rechazo mediado por anticuerpos quedó en el olvido. Posteriormente en 1997 este concepto se retomó.⁽¹⁾

La primera pista de que la presencia de anticuerpos anti-HLA (Histocompatibilidad) podía causar un tipo distinto de rechazo surgió de los estudios de Halloran en su grupo de Edmonton. Estos investigadores demostraron que la presencia de neutrófilos en capilares peritubulares y en los capilares glomerulares están muy relacionados con la presencia de los anticuerpos anti-HLA donador específicos circulantes. Otros hallazgos como la presencia de necrosis fibrinoide de las arterias así como la presencia de microtrombos, son también un hallazgo común.^(1,2)

En 1993 Feuch publicó en su artículo acerca del producto de degradación del complemento C4d y su acumulación en los aloinjertos renales desafiando el concepto de una separación entre el rechazo celular y humoral.⁽¹⁾

Reportando que la detección inmunohistoquímica de C4d en los trasplantes renales era un marcador de respuesta del aloinjerto mediada por anticuerpos que se veía con diferentes cambios histológicos e indicaba una menor supervivencia del injerto.⁽³⁾

Posteriormente Collins et al demostraron que el depósito de C4d en los capilares peritubulares se encuentra presente en todas las piezas de Biopsia renal en los pacientes con anticuerpos antidonador HLA- específicos circulantes de Novo, así como presencia de neutrófilos en el rechazo agudo en los capilares peritubulares o presencia de presencia de necrosis fibrinoide en las arterias.^(3,4)

Mauyiyedi et al probaron que la tinción para C4d es sensible y específica para el diagnóstico de rechazo humoral ya sea agudo o crónico.⁽³⁾

Pero es hasta el 2003 la presencia de C4d fue incorporada en la clasificación de Banff.

La respuesta inmune humoral al trasplante está conectada con la capacidad de responder a los antígenos, así como la presencia de células de memoria, esta respuesta va de acuerdo a la edad del paciente. ^(1,2)

Mecanismos de Lesión

El mecanismo de rechazo agudo mediado por anticuerpos representa un nuevo paradigma en la patología de los órganos trasplantados y ayuda a descubrir la manifestación clínica y morfológica del rechazo agudo. Estimula a los antígenos anti-donador específicos a producir anticuerpos antidonador específicos. Realizando interacción antígeno-anticuerpo, activación del complemento y lesión del injerto. ⁽⁵⁾

Antígenos

Estos antígenos pueden ser aloantígenos o autoantígenos. Entre los aloantígenos, los antígenos anti HLA clase I clase II son los patógenos más frecuentes. Estos antígenos son los más ampliamente distribuidos en riñón, pero son más abundantes en las células endoteliales. Dado que los cambios más severos del Rechazo Agudo Mediado por Anticuerpos se observan en la vasculatura renal. ⁽⁶⁾

Aunque se expresan en el riñón, el aumento en su expresión o la expresión de novo de algunos de ellos en respuesta, incluyendo citocinas o condiciones clínicas que puedan inducir rechazo celular agudo mediado por anticuerpos. Otros aloantígenos incluyen el grupo sanguíneo, que pueden provocar rechazo celular agudo mediado por anticuerpos en pacientes que comparten el mismo HLA o antígenos endoteliales polimórficos.

Desde que se han desarrollado pruebas serológicas para detectar anticuerpos anti – HLA, estos pueden ser responsables de rechazo agudo de aquellos pacientes con rechazo que no cuentan con anticuerpos anti-donador específicos. Los auto antígenos de los injertos- aquellos sin variaciones genéticas dentro de la población- pueden ser causa de rechazo mediado por anticuerpos.

Estos incluyen la vimentina, la cual está expresada en las células endoteliales lesionadas. Angiotensina II Receptor tipo I, ha sido encontrada en series de pacientes con rechazo mediado por anticuerpos sin anticuerpos antidonador específicos.⁽⁵⁾

Anticuerpos

La manera como estos antígenos estimulan la producción de anticuerpos específicos es desconocida. Pero se ha estimado que estos antígenos pueden migrar o son transportados células presentadoras de antígenos hacia órganos linfoides periféricos, donde son reconocidas por células B. Produciendo maduración y proliferación de las células B y que las dentro de las células plasmáticas se produzcan anticuerpos antidonador específicos.

Esta vía ha sido demostrada en rechazo agudo mediado por anticuerpos. Los anticuerpos contra HLA y probablemente otros anticuerpos antidonador específicos son del tipo Inmunoglobulina G, la síntesis de los cuales requiere sensibilización por parte del antígeno y la presencia de células T cooperadoras, comprobando su asociación de estos con el desarrollo de rechazo agudo y crónico mediado por anticuerpos. Los anticuerpos contra los antígenos grupo ABO y algunos antígenos anti-HLA son del tipo IgM y se pueden producir espontáneamente en respuesta a los carbohidratos exógenos que funcionan como antígenos. Finalmente los xenoanticuerpos contaminados anticuerpos antitimocitos derivados de caballo o conejo pueden provocar reacción cruzada contra las células endoteliales y causar rechazo agudo mediado por anticuerpos.

⁽⁵⁾

Activación de las células B y control.

Las células B pueden ser activadas mediante tres vías. Una vía el cual caracteriza la respuesta hacia las proteínas tales como HLA, es definida como dependiente de células T. Esta respuesta requiere la unión del antígeno y su receptor con la células T cooperadoras, a través de las interacciones de CD40 y su ligando.

Otra vía que caracteriza la respuesta a los sacáridos, como es el de los antígenos de grupo de sangre A y B.

Esta vía es definida como independiente de células B tipo 2 debido a que la respuesta puede presentarse aun en ausencia de las células T. Esta respuesta se desencadena por un antígeno polimerizado, y como muchos de estos son carbohidratos (aunque los antígenos de los grupos sanguíneos son oligosacáridos, muchos de estos antígenos pueden encontrarse en forma polimerizada en la flora intestinal y en el área de mucopolisacáridos en el intestino.

La tercera vía es la referida como dependiente de células T tipo I. Esta vía requiere señales a través del receptor Toll-like 4, por la acción de la endotoxina u otras sustancias y estimula la activación policlonal de las células B (y por lo tanto no es dependiente de antígeno). A partir de estos conceptos, es predecible que la mayoría de los pacientes con rechazo humoral pueden presentar este a través de respuestas dependientes de células T. La respuesta humoral puede o no tener efecto en algunos trasplantes. La respuesta humoral puede incrementar la susceptibilidad para la acomodación, una condición en la cual el injerto se resista a la lesión mediada por inmunidad. Otro factor que determina el impacto de la inmunidad humoral en el injerto es la manera como es irrigado.

Los injerto que tienen vasculatura nativa (donador) son mas suceptibles de sufrir lesión mediante la repuesta inmune humoral del receptor. El complejo formado por complemento y anticuerpos pueden desencadenar un rechazo hiperagudo al momento de la reperusión. El rechazo hiperagudo esta causado por una activación rápida del complemento, formándose un complejo de ataque a la membrana en el endotelio del donador. ⁽⁷⁾

Los anticuerpos antidonador específicos que se forman después del trasplante y los preexistentes que no provocaron rechazo hiperagudo, provocaran el desarrollo rechazo vascular agudo o rechazo agudo humoral mediado por estos mismos. Pero este tipo de rechazo se puede desarrollar en ausencia de anticuerpos antidonador específicos. ⁽⁷⁾

Diagnóstico

Anticuerpos antidonador específicos pueden no haberse producido o no encontrarse en el suero del receptor, aun así el injerto desarrollar rechazo. La ausencia de anticuerpos sugiere que estos ya se depositaron en el injerto.

Detección de Anticuerpos Anti-HLA

El principal objetivo de los laboratorios de Histocompatibilidad es detectar la presencia, especificidad y la cantidad de anticuerpos anti-HLA anticuerpos en los candidatos y receptores de trasplante renal. La base de la detección de los anticuerpos anti-HLA es usar el suero de los pacientes como fuente de Anticuerpos anti-HLA de especificidad desconocida en conjunción con antígenos anti HLA de especificidad conocida.

El objetivo de los antígenos HLA son:

- 1) Dependientes de células en su formación original, que se expresan en membranas de las células T para clase I y en las células B de clase I y clase II.
- 2) Antígenos HLA de fase solida y adjuntos a una base artificial como discos plásticos para ELISA o microperlas para el análisis de citometría de flujo.⁽⁸⁾

Importancia Clínica de los Anticuerpos anti HLA

El conocimiento de la importancia clínica los Anticuerpos anti HLA en el injerto se ha desarrollado recientemente. Algunos autores reconocieron la importancia clínica de los anticuerpos anti- HLA clase I, mientras que otros solo han reconocido solo la importancia de los anticuerpos anti-HLA clase II han tenido sobre la supervivencia del injerto. Actualmente hay un consenso que los anticuerpos anti- HLA tipo I y tipo II influyen de forma deletérea en la supervivencia del injerto.

Injerto Renal

Fine et al demostraron que el principal factor que influye en la supervivencia del injerto es la presencia de anticuerpos preformados anti- HLA. Mas del 50% de los pacientes con trasplante renal después de 5 años de seguimiento, entre estos pacientes la pérdida del injerto ocurre en la mitad de los pacientes con rechazo crónico vascular, mas casos que aquellos comparados en pacientes con anticuerpos negativos. ⁽⁸⁾

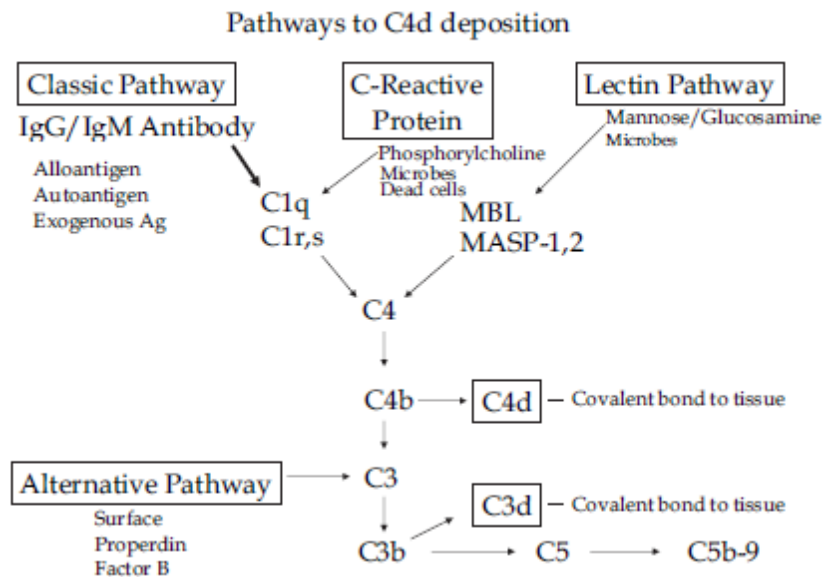
Campos et al demostraron que la presencia de anticuerpos anti-HLA clase II, es un factor de riesgo para la pérdida del injerto en pacientes que no han tenido deterioro de la función renal, y más riesgo de pérdida del injerto en aquellos en los que la función renal ya se ha deteriorado. ⁽⁹⁾

Diagnóstico Histopatológico

Mecanismos Efectores

Los mecanismos efectores son provocados por la activación del complemento y los efectos de estos componentes del complemento y sus productos sobre el injerto. Estos productos se unen a los complejos antígeno-anticuerpo o son liberados al plasma, produciendo lesiones severas, produciendo daño tisular al injerto.

Mientras otros componentes de la vía del complemento son liberadas hacia el torrente sanguíneo otros (C1s, C3b, C2d, C4b, C4d, y c3b-9) se unen a los complejos antígenos-anticuerpos y su presencia sirve como marcador de rechazo agudo mediado por anticuerpos. Pero solo el C4d cumple los requisitos diagnósticos. Esto se explica mediante los experimentos que demuestran que después de que C1s convierte a C4 en C4a y C4b. C4a se queda en torrente sanguíneo, pero C4b a través de grupo tiol-éster, se une covalentemente a las moléculas que tienen grupos amino o hidroxilo. El C4b unido se convierte a C4d mediante el factor 1 plasmático, el cual mantiene el grupo tiol-éster y se une covalentemente en los tejidos, sirviendo como marcador duradero de rechazo agudo mediado por anticuerpos. ⁽⁵⁾



La presencia de C4d en los capilares peritubulares tiene una sensibilidad del 95% y 96% de sensibilidad para la presencia de anticuerpos antidonador específicos y ha sido demostrado como marcador de rechazo mediado por anticuerpos después del trasplante renal. Se ha demostrado que en período del postrasplante inmediato la presencia difusa de C4d es sugerente de rechazo agudo mediado por anticuerpos aun en ausencia de anticuerpos anti-HLA donador específicos.⁽¹²⁾

C4d positivo

La clasificación de Banff define como C4d positivo mediante inmunofluorescencia como el depósito difuso o depósito lineal circunferencial peritubular en la corteza o médula, excluyendo las áreas necróticas o cicatrizales.

Este tipo de patrón se ha asociado con aloanticuerpos circulantes. Muchos de los investigadores han establecido que más del 50% como significativo. El problema ha sido que se debe hacer con aquellos casos en los que no se el depósito no afecta más del 50%.^(13,14)

En un estudio Meehan y sus colegas encontraron que el depósito difuso de C4d de más del 50% en los capilares peritubulares tienen un alto índice de pérdida del injerto a un año (65%) que aquellos con depósito focal o sin depósito de C4d (33% en ambos casos).⁽¹⁵⁾

En contraste Magil y Tinckman que encontraron que el pronóstico en aquellos pacientes con depósito difuso o focal de C4d tuvieron peor pronóstico que aquellos en los que no se demostró la presencia de C4d.⁽¹⁶⁾

Estudios similares en los que la tinción de más del 25% de los capilares peritubulares mediante inmunofluorescencia se asoció con la disminución a un año en la supervivencia del injerto.⁽¹⁷⁾ La mayoría de los casos con C4d focal tiene rechazo agudo celular que aquellos con depósito difuso de C4d (35%), sugiriendo que para que el depósito de C4d sea el único responsable de la disfunción del injerto es necesario el depósito difuso de C4d.

El diagnóstico del Rechazo Agudo Humoral en el injerto renal incluyen tres criterios (que fueron propuestos recientemente en la clasificación de Banff 2007:

- 1) Evidencia morfológica de lesión en el injerto renal
- 2) Evidencia inmunopatológica del efecto de anticuerpos, la cual se demuestra mediante el depósito de C4d
- 3) Anticuerpos anti- HLA o anticuerpos anti MICA circulantes^(1,20,21)

El Rechazo Humoral Agudo puede presentarse en el periodo del trasplante inmediato o tardío. El depósito de polimorfonucleares y/o monocitos/macrófagos en los capilares peritubulares se ha observado en varios grupos de estudio y es sugestiva de rechazo agudo humoral. Los capilares peritubulares se encuentran dilatados. Otros hallazgos patológicos como glomerulitis con infiltración de neutrófilos y/o monocitos, microtrombos fibrinoides glomerulares y arteriolares así como vasculitis severa con necrosis fibrinoide.^(20,21)

Tratamiento:

Jordan y cols proponen para el tratamiento de rechazo humoral agudo, en pacientes que ha desarrollado disfunción del injerto asociado con factores de riesgo para desarrollar rechazo agudo humoral (anticuerpos antidonador-específicos, historia de desensibilización, trasplantes previos), y evidencia histopatologica que demuestre lesión mediada por anticuerpos (depósito de C4d) con evidencia de lesiones minimas (necrosis tubular aguda) deben ser tratados con Bolos de Metilprednisolona, Plasmaferesis, Inmunoglobulina a 2g/kg, Rituximab a 375mg/m²x1.⁽⁴⁾

Inmunoglobulina

La inmunoglobulina G Intravenosa ofrece beneficios en la eliminación de los anticuerpos donador específicos, permitiendo un trasplante exitoso⁽²²⁾.

Terapia con inmunoglobulina en pacientes altamente sensibilizados, disminuye la presencia de alosensibilización, disminuye la lesión provocada por la isquemia y reperfusión, presenta menos eventos de rechazo y presenta mejoría en la supervivencia del injerto.

Confirmándose además que el pretratamiento con Inmunoglobulina disminuye los títulos de anticuerpos anti-HLA y es efectiva en el tratamiento de Rechazo Agudo. Jordan et al demostraron que los pacientes que desarrollaron anticuerpos donador específicos después del trasplante desarrollan rechazo agudo que resistente a los esquemas de inmunosupresión convencionales.

En este grupo se comprobó que el uso de inmunoglobulina con rechazo agudo inhibe los anticuerpos antidonador específicos, provocando una mejoría en la evolución del rechazo.⁽²³⁾

Plasmaferesis

Rocha et al trataron pacientes con rechazo humoral agudo usando plasmaferesis e inmunoglobulina el rango de supervivencia fue de 81 vs 84%.

A pesar de estos resultados no se ha encontrado los mismos resultados en paciente pediátricos con C4d+. Shah et al usaron plasmaferesis en periodo de tiempo de 5 a 10 días, en este estudio la creatinina regreso a su basal en la mayoría de los pacientes.⁽²³⁾

Rituximab

Rituximab es un anticuerpo monoclonal contra CD20, el cual es una molécula encontrada en las células pre-B y las células maduras B. La presencia de CD20 en las células B en las biopsias de trasplante, se asocia con peor pronóstico en rechazos que no responden a los esteroides. Por lo tanto el uso de Rituximab en los episodios de rechazo agudo en aquellos pacientes con una gran cantidad de depósitos de C20, reportado por Becker et al en donde 24 pacientes de 27 tratados con rituximab tuvieron mejoría en la creatinina sérica posterior a la tratamiento con el anti CD20.^(25,26,27)

La inmunoglobulina G Intravenosa ofrece beneficios en la eliminación de los anticuerpos donador específicos, permitiendo un trasplante exitoso⁽²¹⁾.

Kranz et cols en una serie de 4 pacientes se demostró que en tres pacientes se obtuvieron resultados favorables con recuperación de la función renal. Fher y Billin reportaron que la combinación de inmunoglobulina y Rituximab, así como Plasmaferesis tienen impacto sobre la función renal a un año.

En los estudios realizados en la literatura mundial se ha corroborado mejoría en la creatinina serica así como mejoría de la función reportando hasta mejoría en 80% de los pacientes.⁽²⁷⁾

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El Rechazo Agudo Mediado por Anticuerpos que se presenta posteriormente al trasplante es definido como un deterioro agudo de la función renal asociado al desarrollo de anticuerpos antidonador-específicos o anticuerpos reactivos, así como la presencia de signos histológicos como capilaritis, glomerulitis y tinción positiva para C4d. En contraste con el rechazo celular, el Rechazo Agudo Mediado por Anticuerpos generalmente es resistente a esteroides y no responde a los tratamientos convencionales por lo tanto afectando la sobrevida del injerto. El Rechazo mediado por anticuerpos es una entidad rara, se ha detectado en un 7% de los pacientes con rechazo pero su efecto sobre la sobrevida en el injerto se ha determinado en un 20 a 45%. Por lo que conocimiento sobre el efecto que tiene el triple esquema: Plasmaferesis, Gammaglobulina y Rituximab, sobre la función renal a un año de seguimiento en vital para mejorar la sobrevida del injerto renal.

JUSTIFICACIÓN:

El diagnóstico de rechazo agudo mediado por anticuerpos mediante: detección sérica de anticuerpos donador específicos, presencia histológica de tinción C4d positiva en más del 50% en los capilares peritubulares en un paciente elevación de la creatinina es vital para el inicio del tratamiento específico (plasmaferesis, inmuglobulina y rituximab), y disminuir el efecto deletéreo que el rechazo humoral tiene sobre la función a pesar de que esta entidad no es muy frecuente, pero que ha surgido como una de las principales causas de pérdida del injerto a un año.

HIPOTESIS

El tratamiento triple esquema (plasmaferesis, gammaglobulina, rituximab) mejora la función renal después de 1 año de tratamiento.

CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL ESTUDIO

El Hospital Infantil de México Federico Gómez, es un Instituto Nacional de salud, ubicado en la calle Dr. Márquez # 162, colonia Doctores en la delegación Cuauhtémoc. México D.F. Es un hospital de tercer nivel que atiende a población abierta referida de todas las instituciones de salud del Distrito Federal, área metropolitana y resto de la República Mexicana, el cual labora los 365 días del año las 24 horas del día.

El Hospital Infantil de México Federico Gómez, cuenta con 300 camas censables. Este estudio se llevó a cabo tanto en el laboratorio de Investigación de nefrología, como en la consulta externa y el laboratorio de nefrología así como en el laboratorio central los cuales se encuentran ubicados en el tercero y primer piso del edificio Mundet y en el segundo y cuarto piso del edificio Federico Gómez respectivamente.

TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio retrospectivo, descriptivo, longitudinal.

TAMAÑO DE MUESTRA

Se presentan los datos de 12 pacientes con diagnóstico histológico y serológico de rechazo humoral, seguimiento a un año después del diagnóstico de rechazo humoral.

CRONOGRAMA

| Año 2010 | Ene | Feb | Mar | Abr | May | Jun | Jul |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Solicitud de material y reactivos | XX | XX | | | | | |
| Inclusión de pacientes | XX | XX | XX | XX | XX | XX | |
| Análisis de muestras y resultados preliminares | XX | XX | XX | XX | XX | XX | XX |
| Presentación de resultados preliminares | | | | | | | XX |

CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL ESTUDIO

El Hospital Infantil de México Federico Gómez, es un Instituto Nacional de salud, ubicado en la calle Dr. Márquez # 162, colonia Doctores en la delegación Cuauhtémoc. México D.F. Es un hospital de tercer nivel que atiende a población abierta referida de todas las instituciones de salud del Distrito Federal, área metropolitana y resto de la República Mexicana, el cual labora los 365 días del año las 24 horas del día.

El Hospital Infantil de México Federico Gómez, cuenta con 300 camas censables. Este estudio se llevó a cabo tanto en el laboratorio de Investigación de nefrología, como en la consulta externa y el laboratorio de nefrología así como en el laboratorio central los cuales se encuentran ubicados en el tercero y primer piso del edificio Mundet y en el segundo y cuarto piso del edificio Federico Gómez respectivamente.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- a. Niños entre 5 y 17 años de cualquier género, receptores de injerto renal
- b. Evidencia de rechazo humoral documentado por biopsia renal
- c. Presencia de anticuerpos antidonador específicos

2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- a. Evidencia de rechazo crónico o lesión limítrofe para crónico

3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

- a. Defunción durante el tiempo del seguimiento

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES:

- Variable Independiente:
Cálculo de la depuración de creatinina a través de la Fórmula de Schwartz.
- Variable Dependiente:
Medición en sangre: creatinina, búsqueda de anticuerpos-HLA específicos,
búsqueda de depósitos de C4d mediante inmunohistoquímica

MATERIAL Y MÉTODOS:

Material y Metodos:

Se incluyeron paciente con rechazo humoral del periodo del 2005 a 2011.

El diagnóstico de rechazo humoral agudo se realizó por medio de Biopsia Renal según la Clasificación de Banff 2007. Realizándose tinción de C4d en todas las biopsias, las cuales fueron analizadas mediante inmunistoquímica.

La función renal fue evaluada mediante la determinación de creatinina sérica y estimación de la velocidad de filtración glomerular (VFG) por la fórmula de Schwartz:

$eVFG: (ml/min/1.73m^2) = kL/S_{cr}(mg/dl)$ donde: L: talla en centímetros, S_{cr} : Creatinina Sérica, K: constante convalor de 0.55 en niños y adolescentes femenina y de 0.7 para varones adolescentes.

Análisis de Anticuerpos anti- HLA por Luminex:

La determinación de anticuerpos anti-HLA clase I y clase II se realizó mediante ensayo basado en equipo fluoronizador LAB Scan 100 (Luminex, Austin, Tx) y las microperlas cubiertas con antígenos clase I y clase II.

Incluyendo en este estudio aquellos pacientes en los cuales se inicio tratamiento con el siguiente esquema Plasmaferesis 4 a 6 sesiones, Gammaglobulina a 2 grs totales administrándose intercaladas en las sesiones de plasmaferesis y dos dosis de Rituximab a 375mgm2scdía.

Realizándose seguimiento a través de la consulta externa a los 15 días del egreso, y posteriormente al mes, a los 3 meses, al sexto mes y al año de diagnostico de rechazo humoral.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

La creatinina sérica se envió al Laboratorio Central del Hospital Infantil de México Federico Gómez para su procesamiento. Se utilizó el Aparato Dimension X/PAND (DADE BEHRING), que realizó método colorimétrico de punto final.

El diagnóstico de rechazo humoral agudo se realizó por medio de Biopsia Renal según la Clasificación de Banff 2007. Realizándose tinción de C4d en todas las biopsias. Estas muestras histopatológicas se analizaron mediante inmunohistoquímica utilizando la clasificación de Banff modificada en el 2007.

1. Depuración de Creatinina por fórmula de Schwartz ($\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) = $[\text{k} \times \text{talla (cm)}] / \text{creatinina sérica (mg/dL)}$, donde:

$\text{k} = 0.55$ para varones mayores de 1 año y menores o igual de 12 años, y para mujeres de 1 a 16 años; $\text{k} = 0.7$ para varones mayores de 12 años.

Análisis de Anticuerpos anti- HLA por Luminex:

La determinación de anticuerpos anti-HLA clase I y clase II se realizó mediante ensayo basado en equipo fluoronizador LAB Scan 100 (Luminex, Austin, Tx) y las microperlas cubiertas con antígenos clase I y clase II.

ASPECTOS ÉTICOS:

Este estudio se efectuó de acuerdo a la Declaración de Helsinki del año 2000 y al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación.

Los investigadores participantes son especialistas en Nefrología Pediátrica, Biología Molecular y Patología por consiguiente están debidamente capacitados para desarrollar la investigación.

Las pruebas de laboratorio que se efectuaron, se realizan habitualmente tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de los niños con rechazo humoral.

La información proporcionada por el paciente y sus familiares fue de manejo exclusivo de los investigadores y se mantuvo en reserva en el expediente clínico y formatos de recolección de datos del estudio.

En el estudio sólo participaron los pacientes que hayan otorgado su consentimiento informado por escrito; los pacientes o sus familiares conservan copia del mismo y se mantuvieron a la disponibilidad para atender sus dudas o preguntas en el momento que lo requirieron.

RESULTADOS

De 170 rechazos ingresados en nuestro hospital se reportaron 12 casos con rechazo humoral. Siendo el 7% del total de los ingresos del período 2005 a 2010. Siendo 6 hombres y 6 mujeres, de los cuales 7 de donador cadavérico y 5 de donador vivo relacionado. Dos pacientes presentaron en el período inmediato, 4 en el período mediato, 6 en el período tardío del trasplante.

En todos los pacientes se detectaron anticuerpos AntiHLA específicos, y en todos los pacientes se reportaron la presencia mediante inmunohistoquímica de C4d positivo.

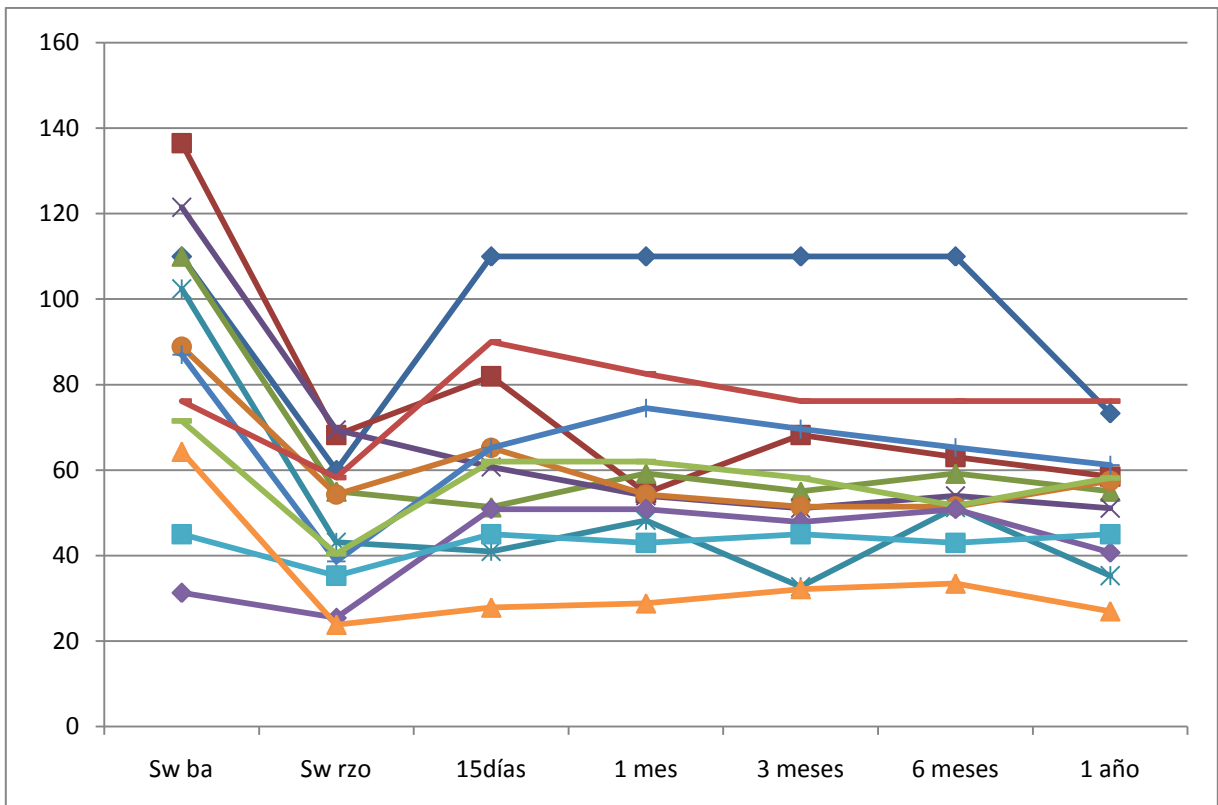
Tres de estos pacientes presentaron rechazo humoral por segunda ocasión, en período de 1 año, 1 paciente tenía un trasplante previo aunque no presentaba anticuerpos donador específicos previo al trasplante. Al mes de seguimiento 1 paciente tenía filtración glomerular por arriba de $90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 3 pacientes tenían filtración de $89-60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 7 pacientes con filtración glomerular entre $69-30\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$. 1 paciente con filtración glomerular de 29 a $15\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$.

A 3 meses la filtración glomerular 1 paciente tenía filtración glomerular de $90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 3 pacientes con filtración glomerular entre $89-60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 8 pacientes con filtración glomerular entre $59-30\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$. Al año de seguimiento 3 pacientes tenían filtración glomerular de $89-60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 7 pacientes con filtración glomerular de $59-30\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$, 2 pacientes con filtración glomerular de $29-15\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2\text{SC}$.

Siendo en general que estos pacientes mantuvieron una filtración glomerular entre de $59-30\text{ml}/\text{min}/1.73$ al término del año de seguimiento.

| cre ba | crrzo | 15días | 1 mes | 3 meses | 6 meses | 1 año |
|--------|-------|--------|-------|---------|---------|-------|
| 0.6 | 1.1 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.9 |
| 0.6 | 1.2 | 1 | 1.5 | 1.2 | 1.3 | 1.4 |
| 0.7 | 1.4 | 1.5 | 1.3 | 1.4 | 1.3 | 1.4 |
| 0.8 | 1.4 | 1.6 | 1.8 | 1.9 | 1.8 | 1.9 |
| 0.8 | 1.9 | 2 | 1.7 | 2.5 | 1.6 | 2.3 |
| 1.1 | 1.8 | 1.5 | 1.8 | 1.9 | 1.9 | 1.7 |
| 1.2 | 2.7 | 1.6 | 1.4 | 1.5 | 1.6 | 1.7 |
| 1.3 | 1.7 | 1.1 | 1.2 | 1.3 | 1.3 | 1.3 |
| 1.3 | 2.3 | 1.5 | 1.5 | 1.6 | 1.8 | 1.6 |
| 2.6 | 3.2 | 1.6 | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 2 |
| 2.2 | 2.8 | 2.2 | 2.3 | 2.2 | 2.3 | 2.2 |
| 1.3 | 3.5 | 3 | 2.9 | 2.6 | 2.5 | 3.1 |

| Sw ba | Sw rzo | 15días | 1 mes | 3 meses | 6 meses | 1 año |
|-------|--------|--------|-------|---------|---------|-------|
| 110 | 60 | 110 | 110 | 110 | 110 | 73.3 |
| 136.5 | 68.2 | 81.95 | 54.63 | 68.2 | 63.03 | 58.5 |
| 110 | 55 | 51.33 | 59.23 | 55 | 59.2 | 55 |
| 121.5 | 69.42 | 60.75 | 54 | 51.1 | 54 | 51.1 |
| 102.4 | 43.13 | 40.97 | 48.2 | 32.7 | 51.2 | 35.3 |
| 88.9 | 54.3 | 65.2 | 54.3 | 51.47 | 51.47 | 57.5 |
| 87 | 38.66 | 65.25 | 74.5 | 69.6 | 65.3 | 61.14 |
| 76.15 | 58.23 | 90 | 82.5 | 76.16 | 76.16 | 76.16 |
| 71.5 | 40.4 | 62 | 62 | 58.15 | 51.66 | 58.15 |
| 31.3 | 25.43 | 50.87 | 50.87 | 47.88 | 50.875 | 40.7 |
| 45 | 35.3 | 45 | 43 | 45 | 43 | 45 |
| 64.3 | 23.8 | 27.82 | 28.8 | 32.15 | 33.44 | 26.96 |



DISCUSION

El rechazo se puede clasificar en rechazo hiperagudo, rechazo, rechazo crónico. El rechazo agudo se divide en celular y humoral. Cuando se realiza diagnóstico de rechazo humoral agudo, se debe realizar en base en los siguientes criterios:

- Anticuerpos anti- HLA presentes
- Depósitos del fragmento del complemento C4d en capilares peritubulares
- Hallazgos histopatológicos de lesión renal en biopsia
- Disfunción Renal (el cual se encuentra presente en el rechazo clínico, ausente en el rechazo subclinico)

La clasificación de Banff 2007 presenta los siguientes criterios

1. C4d+ presencia de anticuerpos donador específicos, evidencia morfológica de lesión tisular
 - I. Inflamación mínima, tipo necrosis tubular aguda
 - II. Inflamación capilar y/o glomerular y/o trombosis (neutrófilos y/o células mononucleares en capilares peritubulares)
 - III. Arterial-v3

La presencia de depósito de C4d en capilares peritubulares se clasifica de la siguiente manera:

Significado Clínico

| | C4d | %Biopsia | IF | IHQ |
|---|----------|----------|-------------|-------------|
| 0 | Negativo | 0 | Negativo | Negativo |
| 1 | Mínimo | 1-<10 | Neg | Desconocido |
| 2 | Focal | 10-50 | Desconocido | positiva |
| 3 | Difuso | >50 | Positivo | Positivo |

Se ha demostrado que el principal factor que influye en la sobrevida del injerto es el desarrollo del Anticuerpos Anti-HLA sobre todos los anticuerpos anti-HLA clase II.

Encontrándose en estudio que todos los pacientes con diagnóstico de rechazo humoral, así como la presencia de C4d + en la biopsias realizadas a estos pacientes mediante inmunohistoquímica.

Para el tratamiento de Rechazo humoral agudo se ha usado Inmunoglobulina intravenosa IVIG, que es un regulador natural de la inmunidad e inflamación, modificando la activación del complemento e inmunidad mediada por células. Rituximab el cual es un anticuerpo monoclonal antiCD20 (anticélula B), reduciendo la actividad de las células presentadoras de antígeno, disminuyendo los niveles de anticuerpos donador específicos en pacientes con rechazo humoral agudo y se emplea pretrasplante como parte de los protocolos de desensibilización.

En nuestro grupo se utilizó plasmaferesis de 4 a 6 sesiones, gammaglobulina después de cada sesión (2 gramos totales) y rituximab a 375mgm²SCdía (dos dosis [1era dosis posterior a la primera sesión de plasmaferesis] y la última dosis al final de la ultima sesión de plasmaferesis)

Se incluyeron 12 pacientes con diagnóstico de Rechazo Humoral Agudo de los cuales 6 fueron mujeres y 6 hombres, siendo 7 pacientes de donador cadavérico y 5 pacientes de donador vivo relacionado. En el primer mes 7 pacientes presentaron incremento de la creatinina en comparación al momento del rechazo a más del 50%, ya para el primer año 7 paciente se mantuvieron con Tasa de Filtración Glomerular mayor de 50ml/min/1.73m²SC.

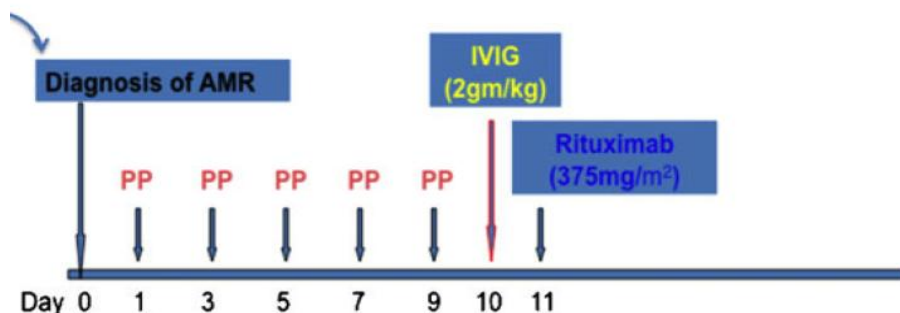
Comparando con la literatura mundial en los cuales se ha reportado mejoría de la función renal en 80% de los pacientes sometidos a esquema similares.

Actualmente se sugieren dos esquemas de tratamiento para rechazo humoral:

1er Esquema Metilprednisolona, IVIG, Rituximab: Pacientes con disfunción Renal: Factores para el desarrollo de Rechazo Humoral: Anticuerpos Donador Especificos Positivos, historia de desensibilización, trasplante previo, C4d positivo en la biopsia, Lesión Histológica renal del tipo necrosis tubular aguda minima

2do Esquema Plasmaferesis, IVG, Rituximab: Pacientes con Disfunción Renal grave de inicio rápido, Factores de Riesgo para Rechazo Humoral: Presencia de Anticuerpos Antidonador Específicos positivos, historia de desensibilización, trasplante renal previo, C4d+ depósito difuso en biopsia renal. Evidencia de inflamación de capilares y/o glomérulos con trombosis

Plasmapheresis + High Dose IVIG and Rituximab for Treatment of AMR (CS)



Existen dos propuestas mas para el tratamiento de rechazo humoral. Bortezomib inhibe proteosoma 26S. Reduce los niveles de anticuerpos anti-HLA donador específicos, que se ha utilizado en el tratamiento de rechazo humoral y agudo. Eculizumab Anticuerpo monoclonal inhibidor de generación C5a y del complejo de ataque de membrana (MAC) (C5b-C9) se ha utilizado en el postransplante después de la desensibilización y microangiopatía trombotica y rechazo humoral. Aun queda más por investigar en el diagnóstico y tratamiento de rechazo humoral en pacientes pediátricos mas sin embargo la información es escasa, se continuara racionalizando la información para mejora de la sobrevivencia del injerto renal.

BIBLIOGRAFIA

1. Racussen L, Colvin R, Solez K Antibody-Mediated Rejection criteria an addition to Banff 97 Clasificatinn of Renal Allograft Rejection American Journal of Transplantation 2003; 3: 708-714
2. Michaels P, Fishbein M, Colvin R Humoral Rejection of Human Organ Transplants Springer Seminars Immunopathology 2003; 25: 119-140
3. Ingulli E Mechanism of Celullar Rejection in transplantation Pediatric Nephrology 2010 25:61-74
4. Kranz B, Kelsh R, Kuwertz-Broking E Acute Antibody-Mediated Rejection in Paediatric Renal Transplant Recipients Pediatric Nephrology 2011; 26: 1149-1156
5. Truong L, Barrios R, Adrogue H Acute Antibody-Mediated Rejection in Renal Transplant Archives of Pathology and Laboratory Medicine 2007; 131:1200-1208
6. Rowshani A, Bemelman F, Lardy N Humoral Inmunity in Renal Transplantation clinical significance and Therapeutic Aproach Clinical Transplantation 2008; 22:689-699
7. Cascalho M, Platt J Basic Mechanism of Humoral Rejection Pediatric Transplantation 2006; 9:9-16
8. Girnita A, Webber S, Zeevi A Anti-HLA antibodies in pediatric solid transplantation Pediatric Transplantation 2006; 10:146-153
9. Campos E, Tedesco H, Machado P Post transplant Anti-HLA Class II Antibodies as Risk Factor for Late Kidney Allograft Failure American Journal of Transplantation 2006; 6:2316-2320
10. Jordan S, Reinsmoen N, Peng A Advances in diagnosing and managing antibody-mediated rejection Pediatric Nephrology 2010; 25:2035-2048
11. Ingelfinger J Agonistic Autoantibodies and Rejection of Renal Allografts New England Journal of Medicine 2005; 352: 617-618

12. Sun Q, Liu Z, Ji S Late and early C4d positive acute rejection Different clinic-histopathological subentities in renal transplantation *Kidney International* 2006; 70:377-382
13. Colvin R Antibody Mediated Renal Allograft Rejection Diagnosis and Pathogenesis *Journal of American Society of Nephrology* 2008 18:1048-1056
14. Heptinsall's Pathology of the Pathology of the Kidney 8th Edition Edited by Jennette JC, Olson J, Schwartz M, Silva F. Philadelphia Lipincott-Raven 2006 p:1347-1490
15. Podural R, Kadambi P, Josephson M Implications of immunohistochemical detection of C4d along peritubular capillaries in late acute renal allograft in late acute renal allograft rejection *Transplantation* 2005 9:228-235
16. Magil AB, Tinckman Focal Peritubular Capillary C4d deposition in acute rejection *Nephrology Dialysis Transplantation* 2006: 21:1382-1388
17. Lorenz M, Regele H, Schillingir M Risk Factor for capillary C4d deposition in kidney allografts: Evaluation of large study cohort. *Transplantation* 2004; 78:447-452
18. C4d in pediatric renal allograft biopsy: A marker for negative outcome in steroid resistant *Pediatric Transplantation* 2006; 10:449-453
19. Moll S, Pascual M Humoral Rejection of Organ Allografts *American Journal of Transplantation* 2005; 5: 2611-2618
20. Racussen L Banff 2003 meeting reporting new diagnostic insights and standards *American Journal of Tansplantation* 2004 4:1562-1566
21. Howie A The Association among C4D staining in renal transplant biopsies, the production of Donor-Specific HLA antibodies on Graft outcomes *Transplantation* 2007; 27: 373-374
22. Jordan C, Vo A, Toyoda M Postransplant Therapy with high dose intravenous gammaglobulin: Applications to treatment of antibody mediated rejection *Pediatric Transplantation* 2005; 9:155-161
23. Jordan SC, Vo AA, Tyan D Current Aproaches to treatment of antibody mediated rejection *Pediatric Transplantation* 2008; 9:408-415

24. Vo A, Cao K, Lai C Characteristics of patients who developed antibody rejection posttransplant after desensitization with IVIG+Rituximab analysis of risk factor and outcomes American Journal of Transplantation 2008; 9:334 Abstract #494
25. Archdeacon P, Newler C Summary of FDA Antibody-Rejection Workshop American Journal of Transplantation 2011; 11:890-906
26. Salama A, Puser Ch Drug Insight: Rituximab in renal disease and transplantation Nature Clinical Practice 2006 Vol2 Novembre
27. Becker Y, Becker B, Pirsch J Rituximab as treatment to Refractory Kidney Transplantation Rejection American Journal Transplantation 2007; 83 1277-1288
28. Kaplan A. Therapeutic Plasma Exchange: Core curriculum American Journal of Kidney Disease Vol 52 Num6 December 2008 1180-1196

ANEXOS

ANEXO 1. HOJA DE VACIAMIENTO DE DATOS.

EFFECTO DEL BLOQUEO DE LA ALDOSTERONA EN LA NEFROPATÍA CRÓNICA EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL.

NOMBRE DEL PACIENTE _____

REGISTRO _____ FECHA DE NACIMIENTO _____

EDAD _____ FECHA TR _____ DVR _____ DC _____

CAUSA DE UREMIA _____ FECHA RECHAZO _____

- BIOPSIA (FECHA DE REALIZACIÓN), DIAGNOSTICO PATOLÓGICO DE NEFROPATÍA SEGÚN CLASIFICACIÓN DE BANFF)

- REPORTE DE ANTICUERPOS ANTIDONADOR ESPECIFICOS

- ES

- TIPO DE INMUNOSUPRESION POST-TRASPLANTE

| Estudio | Fecha | Resultado |
|---|-------|-----------|
| Creatinina sérica (mg/dL) | | |
| Depuración de creatinina por Schwartz (mL/ min / 1.73 mt ² sc) | | |

Medicamentos que recibe

| Nombre | Dosis total e intervalo de dosificación | Niveles |
|--------|---|---------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

Peso: Talla: TA: FC: FR: T°:

SC: Tanner:

Examen físico (buscar ginecomastia)

Observaciones: (Apego al tratamiento, volumen urinario)