



**UNAM**

---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”, ISSSTE**

**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN NEFROLOGIA**

**“IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO  
HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES  
SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO:  
ESPECIALIDAD EN NEFROLOGIA**

**PRESENTA:**

**DR. ROBERTO DE JESÚS GARCÍA AVILÉS**

**ASESORES DE TESIS:**

**DR. SERGIO HERNÁNDEZ ESTRADA**

**DRA. MÓNICA ESCAMILLA TILCH**

**No de Registro: 073-2018**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2019**



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**

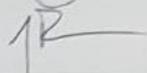
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

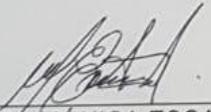
AUTORIZACIONES

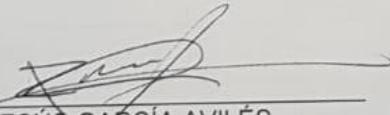
  
\_\_\_\_\_  
DR. MAURICIO DISILVIO LÓPEZ  
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

  
\_\_\_\_\_  
DR. FELIX OCTAVIO MARTÍNEZ ALCALA  
COORDINADOR DE ENSEÑANZA

  
\_\_\_\_\_  
DR. JUVENAL TORRES PASTRANA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN NEFROLOGÍA, JEFE  
DE SERVICIO

  
\_\_\_\_\_  
DR. SERGIO HERNÁNDEZ ESTRADA  
MÉDICO ADSCRITO DEL SERVICIO DE TRASPLANTE Y ASESOR DE TESIS

  
\_\_\_\_\_  
DRA MÓNICA ESCAMILLA TILCH  
ADSCRITO A COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y ASESOR DE TESIS

  
\_\_\_\_\_  
DR. ROBERTO DE JESÚS GARCÍA AVILÉS  
MEDICO RESIDENTE DE NEFROLOGIA Y AUTOR

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, mi familia, mis maestros y compañeros que me permitieron lograr mi sueño y cumplir la meta de estudiar nefrología.

Agradecimiento especial al Dr. Torres Pastrana por ser un ejemplo día a día a seguir. Me enseñó a tener serenidad, prudencia, pasión y entrega.

Al Dr. Sergio Hernández por ser mi maestro de nefrología.

A la Dra Odette Díaz por ser mi mentora y enseñarme no sólo nefrología sino enseñanzas de vida.

A la Dra Tilch por todo su esfuerzo y apoyo para la realización de este proyecto.

A mi novia por todo su apoyo durante la residencia y ser mi motivación para continuar.

## ÍNDICE

I.	TÍTULO DEL PROYECTO.....	5
II.	INVESTIGADORES.....	6
III.	ABREVIATURAS.....	7
IV.	RESUMEN.....	9
1.	INTRODUCCIÓN.....	11
2.	ANTECEDENTES.....	13
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
4.	JUSTIFICACIÓN.....	24
5.	OBJETIVO GENERAL.....	25
5.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
6.	HIPÓTESIS.....	25
7.	METODOLOGÍA.....	26
7.1.	DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO.....	26
7.2.	POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	26
7.3.	UNIVERSO DE TRABAJO.....	26
7.4.	DEFINICIÓN DEL GRUPO CONTROL.....	27
7.5.	DEFINICION DEL GRUPO A INTERVENIR.....	27
7.6.	CRITERIOS.....	28
7.6.1.	DE INCLUSIÓN.....	28
7.6.2.	DE EXCLUSIÓN.....	28
7.6.3.	DE ELIMINACIÓN.....	29
7.7.	TIPO DE MUESTREO.....	29
7.8.	METODOLOGÍA PARA EL CÁLCULO DE LA MUESTRA.....	29
7.9.	DESCRIPCIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.....	30
7.10.	TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS A EMPLEAR.....	32
8.1.	ASPECTOS ÉTICOS.....	33
8.2.	CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD.....	34
9.0	RESULTADOS.....	36
10.	DISCUSIÓN.....	46
11.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	51
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
13.	ANEXOS.....	60

## **I. TÍTULO DEL PROYECTO**

**“IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO  
HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES  
SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**



## **II. INVESTIGADORES:**

### **Roberto de Jesús García Avilés**

Residente del tercer año en la especialidad de Nefrología

Centro Médico Nacional 20 de noviembre

Avenida Félix Cuevas No. 540, Colonia del Valle Delegación Benito Juárez CP: 03229

Email: [dr.robortogarciavilés@hotmail.com](mailto:dr.robortogarciavilés@hotmail.com)

### **Sergio Hernández Estrada**

Médico adscrito del servicio de nefrología y trasplante.

Asesor

Centro Médico Nacional 20 de noviembre

Avenida Félix Cuevas No. 540, Colonia del Valle Delegación Benito Juárez CP: 03229

Email: [sergiohernandezmed@hotmail.com](mailto:sergiohernandezmed@hotmail.com)

### **Mónica Escamilla Tilch**

Adscrito a Coordinación de Investigación

Asesor

Centro Médico Nacional 20 de noviembre

Avenida Félix Cuevas No. 540, Colonia del Valle Delegación Benito Juárez CP: 03229

Email: [met171179@hotmail.com](mailto:met171179@hotmail.com)

### III. ABREVIATURAS

AMR: Rechazo mediado por anticuerpos, del inglés antibody-mediated rejection.

CPA: Célula presentadora de antígeno.

CCR5: Receptor de quimiocina 5, del inglés chemokine receptor 5. CCR7: Receptor de quimiocina 7, del inglés chemokine receptor 7. CXCR3: Receptor de superficie tipo 3, del inglés chemokine receptor 3. CD4: Cluster de diferenciación 4.

DSA: Anticuerpos específicos del donante, del inglés donor-specific antibodies. ERC: Enfermedad renal crónica.

DM2. Diabetes mellitus tipo 2

gDNA: DNA genómico.

HLA: Antígeno Leucocitario Humano, del inglés Human Leukocyte Antigen.

HTAS. Hipertensión arterial sistémica

EICAS. Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

IC: Intervalo de confianza.

ICAM-1: Molécula de adhesión intracelular 1, del inglés Intracellular Adhesion Molecule 1. IL-2: Interleucina tipo 2.

KDIGO: kidney disease improving global outcome. Por sus siglas en inglés

LD: Desequilibrio de ligamento, del inglés Linkage Disequilibrium.

LFA-1: Antígeno-1 asociado a la función de los linfocitos, del inglés Lymphocyte Function-associated Antigen 1.

Mb: Megabases.

MHC: Complejo principal de histocompatibilidad, del inglés Major Histocompatibility Complex.

OR: Odds ratio.

TCMR: Rechazo Mediado por Célula T.

TCR: Receptor de Linfocitos T

TLR-4: Receptor de tipo Toll 4, del inglés Toll-Like receptor 4. VLA-4: Antígeno muy tardío 4, del inglés Very-Late Antigen 4. UTR: Región no traducida, del inglés untranslated region.

VCAM: Moléculas de adhesión vascular celular, del inglés Vascular Cell Adhesion Protein.

#### IV. RESUMEN

Los antígenos leucocitarios humano (*HLA, antígeno leucocitario humano por sus siglas en inglés human leucocitary antigen*) codificado en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) es una barrera inmunológica debido a que inicia la activación de la inmunidad adquirida mediada por linfocitos T y B con riesgo de ocasionar rechazo en el contexto de un trasplante (1). La variabilidad genética se debe a distintos haplotipos heredados de cada progenitor que se codifican en el cromosoma 6 (2). La creación de bases de datos de alelos permite reconocer genes que favorecen el rechazo de injerto; identificar genes regionales y raciales en pacientes con rechazo humoral permite crear un mapa de genes en poblaciones específicas, asociados a mayor estimulación antigénica (3).

Los haplotipos (una combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos) extendidos se correlacionan con la ancestría poblacional que, a su vez, influye en la respuesta inmune (4).

Los antígenos leucocitarios humanos se heredan a través de mecanismos de alineación de padres de bases mediante herencia mendeliana, de manera general se recibe un haplotipo de cada progenitor, heredándose en bloque, originando así dos pares de haplotipos (5). Este arreglo ocasiona que cualquier pareja de hermanos tiene una probabilidad del 25% de heredar los mismos dos haplotipos, 50% de heredar un solo haplotipo y 25% de posibilidad de tener dos haplotipos completamente diferentes (6).

Específicamente en población de México en diversos estudios se han comenzado a analizar la participación de los haplotipos y su asociación con la etnicidad con el rechazo de trasplante renal (7). En un estudio determinaron que el haplotipo A1/B8/DR3 (ancestría caucásica) se encuentra con mayor frecuencia en los donadores cuyos receptores presentaron rechazo agudo; mientras que el haplotipo A\*28/B\*39/DR4 (ancestría amerindia) fue más frecuente en los receptores que presentaron rechazo agudo. Por otro lado, los haplotipos B\*61/DR\*04, A\*35/DR\*06 (ancestría amerindia); A\*68/DR\*01, A\*28/B\*65/DR\*01 (ancestría africana) y A\*33/B\*65 (ancestría caucásica) están asociados con el rechazo renal agudo (8).

Existen diferencias de alelos que permiten la identificación de aquellos con mayor reactividad inmunológica o que por su propia naturaleza conlleven mayor riesgo de rechazo humoral (9). En caso hispano permitirá identificación temprana de factores de riesgo relacionados a desarrollo de rechazo humoral aún en personas que reciben donación proveniente de un familiar (10,11,12).

Por lo que conocer los antígenos leucocitarios humano en la población mexicana mestiza es una herramienta que contribuirá a conocer el proceso del rechazo humoral (13).

## 1. INTRODUCCIÓN

El trasplante de injerto resulta del producto de relacionar células de Sistema Inmune del huésped contra células del donador (injerto) procedentes del sistema inmunológico del paciente cuando entra en contacto con células del donante, por lo que puede presentar varias complicaciones graves relacionadas, entre ellas las relacionadas al rechazo del injerto. Los mecanismos de rechazo en pacientes con trasplante renal se han dilucidado durante los últimos 40 años; se han descrito diversos factores entre los que se encuentran: los inmunológicos, los inherentes al paciente y los asociados al procedimiento quirúrgico (13, 14).

La respuesta inmune que se presenta está mediada por linfocitos T y linfocitos B, se caracteriza por lesión vascular en los túbulos y el endotelio arterial produciendo rechazo agudo o crónico. De forma habitual (directa), los linfocitos T reconocen a los antígenos presentados por las moléculas de MHC, por reconocimiento directo, lo que resulta en la producción de interleucina 2 (IL-2) que induce activación y proliferación de los linfocitos T CD8+ que infiltran el injerto, generando el rechazo. Mientras que la vía indirecta ocurre cuando las CPA (células presentadoras de antígeno) del receptor infiltran el injerto donde captan y procesan el aloantígeno del donante. Posteriormente, se realiza la presentación antigénica a los linfocitos T CD4+ en el bazo, los ganglios linfáticos o en el mismo injerto, en donde se desencadena la respuesta efectora celular y humoral ocasionando el rechazo del injerto (15).

Por otro lado, el rechazo mediado por anticuerpos se debe a la respuesta de linfocitos B con producción de aloanticuerpos, este tipo de rechazo es menos sensible a la terapia convencional y tiene un peor pronóstico, del 20 al 30% de los pacientes presenta este tipo de rechazo, y es causada por anticuerpos anti-HLA (16).

Existen estímulos antigénicos bien documentados como embarazo, transfusiones e infecciones. Sin embargo, aún se desconoce el mecanismo exacto que active todas las vías de señalización asociadas a la hiperreactividad de linfocitos B (17).

El tipo de herencia permite el entrecruzamiento genético proveniente de la donación de un par de haplotipos de la madre y un par del padre, ocasionando variantes raciales y

regionales que condicionan diferentes patrones de genes que pueden o no favorecer el desarrollo o resistencia de enfermedades, y así mismo en el caso particular de trasplante renal favorecer aceptar o rechazar un injerto renal (18,19).

En el caso de la población mestiza mexicana existe una gran heterogeneidad genética al igual que un gran bagaje histórico; el mestizaje a lo largo del territorio mexicano es sumamente heterogéneo, los haplotipos más frecuentes en hispanos y mexicanos incluyen dos haplotipos encontrados en población libanesa, europeos, africanos y los cuatro haplotipos más importantes son nativos mexicanos (20). El mestizaje mexicano posee un mayor componente africano hacia las costas del sureste y algunas zonas del centro del país (con rangos de 0.9 al 40.5%); un componente europeo hacia el norte del territorio (con rangos 4.2 al 70.8%) y con gradientes de componentes nativos americanos (con rangos de 25.6 al 94.5%) hacia las diferentes regiones mencionadas (21).

Debido a que la población mexicana posee una gran heterogeneidad genética que marca su ancestría, se han asociado algunos haplotipos con susceptibilidad tanto al trasplante renal como a su rechazo. Por lo que es importante determinar los alelos en pacientes que presentaron rechazo al trasplante y correlacionarlo con la ancestría para determinar que alelo puede ser considerado protector o de riesgo para el rechazo por lo que se propone el siguiente trabajo de investigación (22).

El conocimiento de la fisiopatología del rechazo mediado por anticuerpos, ha permitido desarrollar estrategias para el control del mismo, entre las cuales tenemos plasmáfesis, micofenolato de mofetil, Rituximab, inhibidores de calcineurina, inhibidores de proteosomas y/o anticuerpos contra factor C5 del complemento (22). Sin embargo, a pesar de estas estrategias farmacológicas aún no se evita el rechazo humoral siendo que el objetivo actual del manejo de pacientes con trasplante renal es evitar el desarrollo de rechazo desde el estudio inmunológico y la detección de factores de riesgo heredados por parte de familiares en caso de donación vivo relacionado.

## **2. ANTECEDENTES**

El número de donaciones ha ido creciendo de forma exponencial, debido al desarrollo de programas por el centro nacional de trasplantes y a pesar de esto, en México más del 60% son provenientes de donadores vivos, de los cuales 47% mantenía lazos de consanguinidad; donde aproximadamente el 10% ha presentado en algún momento datos de rechazo humoral (22).

Debido a la complejidad de realizar un trasplante renal y la escasa disponibilidad de injertos renales, es considerable y muy importante conocer los factores que pueden ocasionar pérdida de injerto como infecciones, eventos de lesión renal aguda, eventos de rechazo, entre otros. Por tanto, es de suma importancia conocer los mecanismos que ocasionan eventos de rechazo, para así poder disminuir la pérdida de injerto (23).

Gracias al desarrollo de inmunosupresores que actúan sobre varias vías de señalización sobre varios puntos de activación leucocitaria, la incidencia de rechazo mediado por anticuerpos es baja, sin embargo, si se presenta, conlleva riesgo de pérdida de injerto hasta en un 30% en un año y riesgo anual de activación de rechazo de hasta el 2%. La supervivencia respecto a población sin rechazo es menor (70 y 97% respectivamente) por lo que conocer la fisiología de la inmunobiología del trasplante resulta fundamental (24) dando así el promedio de vida de injerto renal de donación vivo es de 15 años (25).

### **2.1. Fisiopatología del rechazo al trasplante renal**

El trasplante de un órgano implica la puesta en contacto de sistema inmunológico del huésped con células del donante del tejido, esto desencadena una serie de reacciones que conllevan a la activación del sistema inmune. Estas reacciones activan la inmunidad innata y adquirida, ocasionando cambios histopatológicos a nivel vascular y glomerular. Los mecanismos de rechazo en pacientes con trasplante renal se han dilucidado durante los últimos 40 años; se han descrito diversos factores entre los que se encuentran: los inmunológicos, inherentes al paciente (hipertensión, dislipidemia, enfermedades crónicas, entre otros) y los asociados al procedimiento quirúrgico que conducen a un daño endotelial (tiempo de isquemia y reperusión) (26).

Se ha encontrado que debido al daño producido por la isquemia-reperfusión se produce activación de receptores tipo Toll 4 (*TLR-4*, del inglés *Toll-like receptor-4*) que promueven la liberación de mediadores proinflamatorios y facilita la migración de linfocitos, por lo que la infiltración activa una respuesta proinflamatoria más severa, potenciando la fibrosis renal y el rechazo (27-29).

Se ha descrito la triada de la disfunción del injerto, las cuales son infiltración celular en los capilares, presencia de anticuerpos contra las moléculas del MHC, que se conocen como anticuerpos anti-HLA de clase I o II, en la superficie de las CPA (*células presentadoras de antígeno*, por sus siglas en inglés *cell presenting antigen*) que producen vasculitis severa y/o necrosis fibrinoide de los capilares que finalmente conllevan al rechazo del trasplante (30).

El rechazo del trasplante renal es diagnosticado por una biopsia renal percutánea y por medio de la "Clasificación de Banff" se determina el tipo de rechazo que se presenta, este puede ser por dos mecanismos distintos, ya sea mediado por células T (rechazo celular, *TCMR* por sus siglas en inglés *T-cell mediated rejection*) o mediado por anticuerpos - rechazo humoral- (*AMR*, del inglés *antibody-mediated rejection*) (40).

El rechazo humoral esta mediado por la presencia de anticuerpos dirigidos contra moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad activando el complemento. Los antígenos leucocitarios humano son responsables del autoreconocimiento y en caso de trasplante al no compartir moléculas HLA este se activa. Existen más de 1600 alelos. Codificados por genes que se encuentran en el cromosoma 6; divididos en 2 clases, moléculas clase I (HLA-A, HLA-B y HLA-C), se encuentran en todas las células nucleadas, mientras que las moléculas clase II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR) se encuentran en las células presentadoras de antígeno. (32) En el receptor los anticuerpos dirigidos contra moléculas del HLA del donador se denominan anticuerpos anti-HLA, existen otros anticuerpos contra otros estimulantes antigénicos como antígenos del grupo sanguíneo ABO, antígenos de histocompatibilidad menores, antígenos de células endoteliales, y anticuerpos contra receptor de angiotensina que también participan en la presencia del rechazo humoral. Los antígenos son presentados por células presentadoras de antígenos a los linfocitos T quienes activan linfocitos B mediante citoquinas y factores coestimuladores. Los linfocitos B se pueden diferenciar en células B de memoria o células plasmáticas formadoras de anticuerpos. Los anticuerpos no dañan directamente al injerto sino más bien mediante la activación del complemento o células citotóxicas (31).

El complemento genera daño tisular y trombosis. Así mismo genera el complejo de ataque de membrana que ocasiona daño enzimático. Adicionalmente reclutamiento de neutrófilos, macrófagos y marcadores inflamatorios. A nivel endotelial y de la membrana basal se unen de forma covalente a moléculas que activan de forma indirecta -a través de interleucinas como IL-17- o directa por la activación de leucocitos ayudadores (*Th* del inglés, *lymphocytes helper*) (33).

La severidad de rechazo mediado por linfocitos T se basa en la intensidad de la inflamación, la distribución y lesión vascular, atacando principalmente a los túbulos y endotelio arterial; los linfocitos T reconocen antígenos presentados en moléculas de MHC, ya sea por el reconocimiento directo o indirecto; la vía directa es cuando los linfocitos T CD4+ son activados debido a que reconocen por su receptor a los aloantígenos en las moléculas de MHC intactas en la superficie de las CPA del donante, lo que resulta en la producción de la interleucina 2 (IL-2, del inglés Interleukin-2) que induce activación y proliferación de los linfocitos T CD8+ que infiltran el injerto, generando el rechazo (34). Mientras que la vía indirecta ocurre cuando las CPA del receptor infiltran el injerto donde captan y procesan el aloantígeno del donante, posteriormente realizan la presentación antigénica a los linfocitos T CD4+ en el bazo, ganglios linfáticos o en el mismo injerto, donde se desencadena la respuesta efectora celular y humoral ocasionando el rechazo del injerto. Aunado a lo anterior, el sistema del complemento juega un papel importante debido a que puede inducir lisis celular y formación de complejos inmunes, que al no ser eliminados puede promover daño al injerto (35).

La activación y proliferación de los linfocitos es un proceso que ocurre en el ganglio linfático donde deben acudir las CPA del donante o del receptor para activar la respuesta, la migración es dirigida por las quimiocinas como la CCR7 (*receptor de quimiocina 7*; del inglés, *chemokine receptor 7*); en el proceso de respuesta, los linfocitos CD8+ migran del ganglio al injerto dirigidos también por quimiocinas como la CXCR3 (receptor de quimiocina 3; del inglés, *chemokine receptor 3*) y CCR5 (receptor de quimiocina 5; del inglés, *chemokine receptor 5*), donde son fijados y extravasados gracias a las moléculas de adhesión, expresadas en linfocito (S-Le-X, VLA-4; del inglés *leukocyte ligand for endothelial vascular cell adhesion molecule-4*, LFA-1; del inglés *Lymphocyte function-associated antigen 1*) y endotelio (E-selectina, VCAM; del inglés *vascular cell adhesion molecule 1*, ICAM-1; del inglés *Intercellular Adhesion Molecule 1*) (36).

El rechazo mediado por anticuerpos se debe a la respuesta de linfocitos B los cuales producen aloanticuerpos, este proceso depende de las citocinas que contribuyen a la diferenciación de linfocitos B en células productoras de inmunoglobulinas, pero una vez producida esta diferenciación, la producción de inmunoglobulinas es relativamente independiente de las citocinas (37). Este tipo de rechazo es menos sensible a la terapia convencional y tiene un peor pronóstico, del 20 al 30% de los pacientes presenta este tipo de rechazo, y es causado por anticuerpos anti-HLA, el grupo sanguíneo o antígeno de células endoteliales, por lo que se ven afectados los capilares peritubulares y glomerulares, induciendo una pérdida del trasplante a un año a pesar de tratarlo con terapia inmunosupresora convencional. El conocimiento de la fisiopatología del rechazo mediado por anticuerpos ha permitido desarrollar estrategias para el control del mismo, entre las cuales tenemos plasmaferesis, micofenolato de mofetil, rituximab, inhibidores de calcineurina, inhibidores de proteosomas y/o anticuerpos contra C5 (38).

Existen tres tipos de rechazo del trasplante basado en relación al tiempo, la patogenia, la clínica y los hallazgos histológicos (39).

a) Hiperagudo/acelerado. Es causado por anticuerpos preformados específicos del donante (DSA, del inglés donor-specific antibodies), los complejos inmunes activan el complemento causando una trombosis masiva en los capilares, evitando la vascularización del injerto (40).

b) Aguda. Se manifiesta en los primeros seis meses posteriores al trasplante y puede generar necrosis tubular aguda, glomerulopatía microangiopática trombótica o inflamación arterial vascular. Se divide en: 1) reacción celular, en la cual los linfocitos T son activados contra los antígenos del donador; 2) reacción humoral, que ocurre postrasplante o en la primera semana y hay anticuerpos preformados o se generan anticuerpos anti-donador (Ab anti-HLA) (41).

c) Crónica. Sucede un año después del trasplante y es mediado por una respuesta celular y humoral, en la mayoría de los casos existen Anticuerpos anti-HLA clase I o II. Los antígenos anti- HLA clase I están presentes en todas las células del órgano trasplantado, mientras que los antígenos anti-HLA de clase II son expresados principalmente en las CPA profesionales. Por lo tanto, después de que las CPA del donante desaparecen, el estímulo para la producción de anticuerpos anti-HLA clase II disminuye significativamente, esto demuestra un importante impacto negativo de los anticuerpos anti-HLA clase II en la supervivencia del injerto a largo plazo (42).

## **2.2. Antígeno Leucocitario Humano (HLA)**

Las moléculas del MHC son la diana más importante de la respuesta alogénica, debido a que: 1) son moléculas expresadas en la membrana y, por tanto, fácilmente accesibles en células vivas tanto a anticuerpos como al receptor de los linfocitos T CD8+ citotóxicos; 2) son moléculas cuya función fisiológica es ser reconocidas por los receptores de los linfocitos T (por sus siglas en inglés TCR, T cell receptor), contribuyendo a la compatibilidad inmunológica; 3) son las más polimórficas del organismo, con cientos de alelos para cada uno de sus locus, por lo que siempre existen alelos del donante diferentes de los del receptor, a excepción de la relación entre hermanos (43); El MHC se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p) exactamente en la banda 6p21.3, abarca cerca de 4 megabases (Mb) y se caracteriza por ser una de las regiones con mayor densidad génica mostrando un alto grado de polimorfismo o variación alélica que permite una gran diversidad, es de expresión codominante, es decir, en la membrana celular se expresan tanto los alelos del padre como los de la madre (44). Dentro de esta región se encuentran los genes del HLA que codifican proteínas de superficie MHC indispensables para montar y regular la respuesta inmunológica ya que presentan los péptidos a células T; están involucradas en la reacción a trasplantes de tejidos, autoinmunidad y respuesta inmune contra diversas infecciones causadas por patógenos (45).

El complejo de MHC está dividido en tres regiones clase: I, II, y III. Las moléculas clase III son genes no-HLA pero contienen genes involucrados con la inmunidad al codificar componentes de la cascada del complemento, factor de necrosis tumoral (TNF, en inglés *tumor necrosis factor*), proteínas de choque térmico, entre otros. (46).

Las moléculas de clase I se componen de una cadena de glicoproteína pesada codificada por varios loci en el cromosoma 6 y una única cadena ligera denominada microglobulina  $\beta 2$  codificada en el cromosoma 15, se encuentran en la superficie de casi todas las células y se unen a los TCR de las células T citotóxicas (47).

La región de clase I se encuentra en el extremo más cercano al telómero ocupando cerca de 2Mb. De los loci de clase I ocho son genes funcionales (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G, MICA y MICB) que se dividen en clase Ia [son genes clásicos: HLA-A, -B y -C, unen péptidos que presentan al TCR y se expresan en la superficie de células somáticas] y clase Ib [son genes no clásicos: HLA-E, -F y -G, presentan péptidos solo a un subgrupo de células T]; cuatro son pseudogenes, cuatro son pseudogenes truncados y tres son fragmentos de genes (48). Cada gen de clase I consta de 6 ó 7 exones donde la zona polimórfica reside en los exones 2 y 3. El exón 1 abarca la región 5' no traducida (5'-UTR, del inglés *untranslated region*) y la región que codifica al péptido señal; los exones 2, 3 y 4 codifican tanto para los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  que contienen los sitios que unen a los péptidos y el dominio  $\alpha 3$  que es semejante a las inmunoglobulinas; el exón 5 codifica para la región transmembranal y los exones 6 y 7 codifican para la región citoplásmica (49).

Las moléculas MHC II son heterodímeros formados por una cadena  $\alpha$  y una  $\beta$ , cada una de ellas está codificada por un gen diferente localizados en el cromosoma 6, suelen encontrarse únicamente en las superficies de las CPA de modo que cuando se asocian a péptidos sólo son reconocidas por el TCR. Los genes de clase II son clasificados en las familias HLA-DP, -DN, -DM, -DO, -DQ y -DR, de los cuales se codifican péptidos de cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  que generan heterodímeros provenientes de la misma familia respectivamente, con excepción de la familia DR porque hay un *locus* de DRA ( $DR\alpha$ ) pero difieren en el número de locus DRB ( $DR\beta$ ) de los que se conocen nueve *loci*, cuatro son funcionales (HLA-DR  $\beta$ 1, -DR  $\beta$ 3, -DR  $\beta$ 4 y -DR  $\beta$ 5), cuatro pseudogenes (-DR  $\beta$ 2, -DR  $\beta$ 6, -DR  $\beta$ 7 y -DR  $\beta$ 8) y -DR  $\beta$ 9 que es un fragmento de gen (50, 51).

La organización genética de las moléculas de clase II está dada en 5 exones para los genes A y 6 para los exones B. En ambos genes, el exón 1 contiene la región 5'-UTR y la región que codifica para el péptido señal, el exón 2 codifica al dominio  $\alpha$ 1 o dominio  $\beta$ 1 que son los que conforman la región captadora del péptido, el exón 3 para los dominios  $\alpha$ 2 y  $\beta$ 2 y el resto de los exones codifican para la región transmembranal y citoplásmica. La variabilidad de los loci de clase II reside principalmente en el exón 2 (52).

El mecanismo de herencia de los genes de HLA es obedeciendo leyes mendelianas. Siendo que se hereda un haplotipo HLA proveniente del padre y uno de la madre. Donde cualquier pareja de hermanos tiene probabilidad del 25% de heredar los mismos haplotipos parentales, una probabilidad del 50% de heredar un haplotipo y una probabilidad de tener dos haplotipos completamente diferentes (53).

Los niños heredan un haplotipo del HLA de cada progenitor y se heredan en forma de bloque, a no ser que se haya producido una recombinación durante la meiosis del óvulo o del espermatozoide, que se muestra aquí como una flecha entre B y DR en la madre. Tales acontecimientos se producen en menos del 1% de las ocasiones en el HLA. Las posibilidades de tener un hermano con el mismo HLA o uno completamente incompatible en una familia es de 1:4. Los hermanos haploidénticos se dan con un cociente de probabilidades de 1:2 y todos los niños son haploidénticos con respecto a cada progenitor (54).

### 2.3. HLA, ancestría y rechazo del trasplante renal

Si las moléculas de HLA fallan al unir o presentar péptidos puede generarse una respuesta inmune deficiente, por lo tanto, los individuos heterocigotos que tengan mejor capacidad de presentar una mayor cantidad de péptidos diferentes podrán responder eficientemente, exhibiendo una ventaja evolutiva importante dado que las enfermedades son una de las principales presiones selectivas. En consecuencia, generan una extraordinaria variación genética a través de la selección positiva y la aparición de nuevos puntos de mutaciones debido a la interacción del HLA con nuevos péptidos, así como la conversión génica que incrementa el número de polimorfismos sustentando el balance de la selección (55).

Todas estas variaciones genéticas implicadas en la respuesta inmune y viceversa son heredadas a través de las generaciones, conformando el bagaje de la ancestría en las poblaciones, los patrones de desequilibrio de ligamiento (por sus siglas en inglés *LD*, *linkage disequilibrium*) de los loci de HLA pueden dilucidar las posibles relaciones evolutivas que los alelos han tenido debido a una fuerte selección por millones de años. Los alelos de HLA se heredan en bloques debido al LD y es la tendencia de dos alelos de dos diferentes loci que se encuentran juntos más de lo esperado, el LD positivo describe cuando dos alelos están presentes en el mismo cromosoma más del 50% de las veces; estos bloques con otros alelos conforman los haplotipos, esta combinación de alelos ligados a múltiples loci son heredados de generación en generación (56).

La población mestiza mexicana posee una gran heterogeneidad genética al igual que un gran bagaje histórico; a principios del siglo XVI pobladores pertenecientes a distintos troncos lingüísticos que descendían de una migración Beringia, se encontraron con los colonizadores españoles provenientes de Andalucía, León, Extremadura y las Castillas, y posteriormente a la llegada de esclavos africanos a América, se concibió un mestizaje. Pero tras una serie de guerras de conquista, pandemias como el Huey Cocoliztli (del náhuatl “gran enfermedad, epidemia”, supuestamente ocasionada por fiebre hemorrágica

viral), hambrunas y otros factores, acabaron con el 90% de la población originaria, la cual fue sustituida por mulatos, criollos, europeos y africanos (57).

Después de tales eventos, el mestizaje a lo largo del territorio mexicano es sumamente heterogéneo, los haplotipos más frecuentes en hispanos y mexicanos incluyen dos haplotipos encontrados en la población libanesa, europea y africana, y los cuatro haplotipos más importantes son nativos mexicanos (58). El mestizaje mexicano posee un mayor componente africano hacia las costas del sureste y algunas zonas del centro del país (con rangos de 0.9 al 40.5%), un componente europeo hacia el norte del territorio (con rangos 4.2 al 70.8%) y con gradientes de componentes nativos americanos (con rangos de 25.6 al 94.5%) hacia las diferentes regiones mencionadas. Aunado a lo anterior, los movimientos económicos, migración y diferentes actividades económicas contribuyeron a la introducción de genes inmigrantes de origen no mexicano (2.8%) (18).

Debido a que la población mexicana posee una gran heterogeneidad genética que marca su ancestría, se han asociado algunos haplotipos con susceptibilidad tanto al trasplante renal como a su rechazo. Un estudio realizado en 1,276 pacientes sometidos a trasplante renal atendidos en el CMN "Siglo XXI" IMSS (Instituto Médico de Seguridad Social), determinaron que los alelos con mayor frecuencia fueron HLA-A\*02, B\*35, Cw\*07, DRB1\*04 y DQB1\*08, sin embargo, no realizaron una correlación con la ancestría colocar referencia (28). Mientras que un estudio en el CMN "La Raza" IMSS, determinaron que los alelos más frecuentes en pacientes con trasplante renal fueron A\*02, A\*24 y A\*68 que son los más comunes en América Central y Sudamérica; los alelos B\*35, B\*40 y B\*15 que coinciden con los grupos Americanos de Colombia y Argentina, aunque el alelo B\*35 es el único que se considera un marcador originario amerindio; el alelo DRB1\*04 es común en europeos, asiáticos y nativos americanos, además el alelo DRB1\*03 en africanos y europeos (29).

Otro estudio, llevado a cabo en 127 pacientes mexicanos mestizos con trasplante renal, demostró que el haplotipo de ancestría caucásica A\*01/B\*08/DR3 se encuentra con mayor frecuencia en los donadores cuyos receptores presentaron rechazo agudo;

mientras que el haplotipo A\*28/B\*39/DR4 de ancestría amerindia fue más frecuente en los receptores que presentaron rechazo agudo, por lo que sugieren que la ancestría y el LD de los haplotipos de HLA están asociados a un mayor riesgo a desarrollar rechazo agudo al trasplante renal (Riquelme- McLoughlin, 2011). Por otro lado, Torres-Machorro y colaboradores, determinaron que los haplotipos B\*61/DR\*04 y A\*35/DR\*06 de ancestría amerindia; A\*68/DR\*01 y A\*28/B\*65/DR\*01 de ancestría africana; y A\*33/B\*65 de ancestría caucásica, están asociados con el rechazo renal agudo (28).

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a que el rechazo humoral de trasplante renal es una complicación frecuente en el CMN “20 de noviembre” ISSSTE, es necesario conocer los factores genéticos asociados al rechazo del trasplante renal de donación vivo relacionado, ya que esta complicación es mediada por el sistema inmune ya sea por anticuerpos o mediado por células. Es de suma importancia determinar qué haplotipos de HLA están asociados a la presencia de rechazo con el objetivo de determinar factores pronósticos genéticos para evitar esta complicación. Asimismo, conocer los marcadores genéticos exclusivos para la población mexicana, entender cómo se van heredando estos genes en dicha población y su impacto en futuras generaciones de esta patología.

### **4. JUSTIFICACIÓN**

Actualmente, la donación de órganos a nivel nacional sigue siendo un tema importante de salud ya que existen muy pocas posibilidades de encontrar un donador adecuado para tener un trasplante exitoso. En el CMN “20 de noviembre”, ISSSTE se implementó el “Programa de Trasplante Renal” para incrementar los trasplantes, sin embargo, el porcentaje de rechazo renal (frecuencia 14%) sigue siendo un tema de preocupación e interés (53).

Aunado a lo anterior, la información actual de la relación de los haplotipos de HLA y la etnicidad es muy pobre con respecto al trasplante renal y su rechazo. En los estudios realizados en población Mexicana Mestiza aún no se han asociado con la herencia genética familiar a pesar de que la mayoría de los donadores son vivos relacionados o vivos emocionalmente relacionados, por lo que se requiere hacer un análisis profundo de esta relación en la población mexicana mestiza y el rechazo al trasplante renal. Es por ello que el comprender cómo los mecanismos evolutivos y adaptativos han diversificado el sistema de HLA, contribuirá a optimizar la elección de receptor/donador, un tratamiento de elección personalizado con una mejora en la calidad de vida de los pacientes sometidos a trasplante renal (54).

## **5. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la asociación de los genotipos y haplotipos de HLA con la etnicidad y con la susceptibilidad al rechazo humoral del trasplante renal de donación vivo relacionado en población mexicana.

### **5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Recolección de muestras de sangre periférica en pacientes sometidos al “Programa de Trasplante Renal” así como sus familiares del CMN “20 de noviembre”, ISSSTE.
- b) Determinar las características epidemiológicas de los pacientes y familiares de primer grado.

## **6. HIPÓTESIS**

Los genotipos y haplotipos de los genes de HLA determinan la susceptibilidad y/o protección al rechazo de trasplante renal al modular la respuesta inmune e influir en la progresión de dicha patología.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO**

El proyecto cuenta con número de registro 073.2018. (ANEXO 1).

Se realizó un estudio trasversal a partir del cual se estableció la asociación de antígenos de HLA con rechazo humoral en pacientes trasplantados de injerto renal proveniente de donador vivo relacionado, que se encuentren en seguimiento de consulta externa de Nefrología y Trasplante del Centro Médico Nacional 20 de noviembre ISSSTE. Se realizó en el periodo comprendido del 01 de septiembre 2018 a Junio del 2019, durante el cual se invitó a participar a los pacientes que cumplieran los criterios de inclusión, todos ellos manifestaron su consentimiento y aprobación para participar en el estudio, bajo firma de Carta de Consentimiento Informado (ANEXO 2) y Aviso de Privacidad (ANEXO 3); así mismo, los datos se recopilaron en una hoja de protocolo diseñada para tal fin en la hoja de recolección de datos y cuestionario de ancestría (ANEXO 4).

### **7.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Familiares y pacientes receptores de trasplante renal de donación vivo relacionado con antecedente de rechazo humoral en seguimiento de consulta externa de Nefrología y Trasplante en el periodo comprendido del 01 de septiembre 2018 a junio del 2019, del Centro Médico Nacional 20 de noviembre ISSSTE.

### **7.3. UNIVERSO DE TRABAJO**

Se reclutaron pacientes de cualquier sexo, mayores de 18 años de edad, diagnosticados con rechazo de trasplante renal, en el periodo comprendido del 01 de septiembre 2018 a junio del 2019. Los pacientes están a cargo de los Departamentos de Nefrología y de Trasplantes del CMN “20 de noviembre” ISSSTE, fueron elegidos aquellos que tengan diagnóstico confirmado por biopsia y cuenten con un expediente clínico completo. El tratamiento de los pacientes con rechazo a trasplante renal no está supeditado a una sola terapia y es heterogéneo, por lo que no se tomó en cuenta el tratamiento empleado. Se

documento en nuestra base de datos los distintos tratamientos con la intención de documentar potenciales correlaciones. Debido a que es un estudio de herencia familiar se incluyeron a los familiares de primer grado. Los candidatos fueron invitados a participar en el estudio por medio de una explicación verbal y escrita de los objetivos de la investigación, así como de lo que implica su participación en ella, posteriormente se les pidió firmar el consentimiento informado y se les realizó un cuestionario de ancestría (ANEXO 4). El cuestionario de ancestría sirvió para determinar la etnicidad de la población ya que tanto pacientes como los familiares son clasificados como mexicanos mestizos, los cuales son definidos como aquellos individuos nacidos en México que tienen un apellido derivado del español, con ancestros nacidos por lo menos tres generaciones en México. Los mestizos son el resultado de 500 años de mezcla entre españoles, amerindios y africanos, por lo que hoy en día son los que representan la mayoría de la población mestiza mexicana (>90%).

#### **7.4. DEFINICIÓN DEL GRUPO CONTROL**

Muestras sanguíneas de al menos dos familiares, mayores de 18 años, en línea directa de pacientes que hayan presentado rechazo al trasplante renal, en el periodo comprendido del 01 de septiembre 2018 a junio del 2019

#### **7.5. DEFINICIÓN DEL GRUPO A INTERVENIR.**

Pacientes mayores de 18 años de edad diagnosticados con rechazo de trasplante renal que cuenten con un expediente clínico completo; en el periodo comprendido del 01 de septiembre 2018 a junio del 2019.

## **7.6. CRITERIOS**

### **7.6.1. DE INCLUSIÓN**

- a) Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico confirmado y documentado por biopsia de un evento de rechazo humoral al injerto de trasplante renal, de donador vivo o retrasplante. Los pacientes deben estar en tratamiento del rechazo de cualquier tipo en el CMN "20 de noviembre" ISSSTE, contar con expediente completo y con consentimiento firmado para la determinación de pruebas e ingreso al protocolo de estudio.
  
- b) El grupo conformado por los familiares de primer grado, al menos dos familiares, mayores de edad, que decidan participar en el estudio

### **7.6.2. DE EXCLUSIÓN**

Cuando además de la enfermedad de interés para el estudio, el paciente presente las siguientes condiciones:

- a) Pacientes con trasplante renal de donador vivo o retrasplante sin rechazo de cualquier tipo.
  
- b) Pacientes con trasplante renal de donador vivo o retrasplante con rechazo de cualquier tipo en hospital foráneo, enviados a nuestra institución para tratamiento, pero sin realización de biopsia renal para confirmar diagnóstico.
  
- c) Estar en tratamiento con quimioterapia, trauma severo o cirugías mayores en el último mes. No cumplir la toma de muestras.

### **7.6.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- a) Pacientes que no acepten la toma de muestras intencionada para el protocolo, quienes no tengan diagnóstico contundente y/o aquellos que no cuenten con los datos completos para el análisis demográfico, de ancestría, entre otros; o bien, que en cualquier momento del curso de la investigación declinen su consentimiento informado.
- b) Pacientes de los cuales la familia no pueda acudir a determinación de muestras para protocolo o estar en tratamiento con quimioterapia, trauma severo o cirugías mayores en el último mes.
- c) Paciente fallecido o vivo en seguimiento por nuestro hospital, pero sin familiares vivos o dispuestos para acudir a determinación de muestras para protocolo.
- d) Aquellos cuya muestra de sangre, por motivos toma de muestra o inherentes a ésta, no pueda procesarse adecuadamente.

### **7.7. TIPO DE MUESTREO**

Muestro no probabilístico por conveniencia de al menos 20 pacientes y sus familiares para este estudio, ya que se tendrán pacientes con los tres tipos de rechazo (hiperagudo, agudo y/o crónico) que se pueden presentar inmediatamente o hasta después de un año pos-trasplante.

### **7.8. METODOLOGIA PARA EL CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

Dado que, durante el periodo comprendido de septiembre del 2015 a la fecha, se ha reportado un rechazo de un 14%, se espera que tengamos 20 pacientes y sus familiares para este estudio, ya que se tendrán pacientes con los tres tipos de rechazo (hiperagudo,

agudo y/o crónico) que se pueden presentar inmediatamente o hasta después de un año pos-trasplante.

## 7.9. DESCRIPCIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Unidades categorías</b>
Sexo	Referido por interrogatorio.	Cualitativa Dicotómica	Masculino Femenino
Edad	Fecha actual – Fecha de nacimiento.	Cuantitativa Continua	Años
Región de procedencia	Estado o provincia-área metropolitana	Cualitativa Nominal	Estados de la República Mexicana
Causa de la enfermedad renal crónica	Glomerulopatía, trastornos congénitos, DM2 o HAS, otras	Cualitativa Nominal	1 a 6
Tiempo con Enfermedad Renal Crónica	Referido por el interrogatorio	Cuantitativa continua	Años
Comorbilidades	Referido por el interrogatorio	Cualitativa Nominal	Sí - No
Tipo de sangre del donante	Determinado por los antígenos de los grupos sanguíneos A, B, O y el factor Rh presentes en los glóbulos rojos.	Cualitativa Nominal	A, B, AB, O y Rh
Tipo de sangre del trasplantado	Determinado por los antígenos de los grupos sanguíneos A, B, O y el factor Rh presentes en los glóbulos rojos.	Cualitativa Nominal	A, B, AB, O y Rh
Tipo de trasplante	Según el tipo de donante	Cualitativa Nominal	Vivo o cadavérico
Sobrevida global	Global (desde el diagnóstico inicial hasta la muerte) y libre de rechazo (desde el trasplante hasta el rechazo de injerto)	Cuantitativa Continua	Años

Sobrevida	Muerte y motivo del deceso relacionada con el rechazo renal	Cualitativa Nominal	Sí - No
Marcadores genéticos (HLA)	Genotipos y haplotipos	Cualitativa Nominal	Presencia o ausencia
Tipo de rechazo renal	Hiperagudo, agudo o crónico	Cualitativa Nominal	Presencia o ausencia
Tratamiento	ICAS- Insulina – tacrolimus- basiliximab- timoglobulina- azatioprina- micofenolato de mofetilo- sirulimus-levotiroxina	Cualitativa nominal	1 a 10
Comorbilidades	Hipertensión arterial sistémica- diabetes mellitus- hipotiroidismo- glaucoma- anemia	Cualitativa nominal	1 a 5
Hiperparatiroidismo secundario	Tomado del expediente clínico	Cualitativa nominal	Sí- No
Hallazgos de biopsia renal	Pericapilaritis, glomerulitis, arteritis, microangiopatía, tubulitis	Cualitativa nominal	Presencia o ausencia
Anticuerpos antidonador específico	Tomado del expediente clínico	Cualitativa nominal	Sí- No

## 7.10.TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS A EMPLEAR

Se recopilaron aproximadamente 20 familias de pacientes con rechazo al trasplante renal, los individuos cumplieron con los criterios de inclusión y consentimiento informado (ANEXO 2) y el aviso de privacidad (ANEXO 3) aprobado con anticipación por el comité de ética, bioseguridad e investigación del CMN “20 de noviembre” del ISSSTE.} Cada uno de los procedimientos descritos a continuación se realizaron en pacientes y sus familiares. Se analizaron los alelos y los haplotipos de los genes de HLA a partir de los cuales se determinaron la asociación con el rechazo al trasplante renal, así como su asociación con la etnicidad en la población mexicana mestiza. En este proyecto se analizó el fondo genético de los pacientes y de sus familias para determinar la herencia y como la mezcla étnica contribuye a esta, para lo cual se conjuntó a un equipo interdisciplinario con experiencia de modo tal que esta colaboración hizo factible cumplir con los objetivos del proyecto.

Además, se tuvo acceso a las instalaciones y uso de equipos pertinentes para las entrevistas y toma de muestra sanguínea. El procedimiento de toma de muestra sanguínea se realizó asepsia de la región con torundas alcoholadas, se aplicó un torniquete con ligadura de látex en el tercio distal del brazo seleccionado, se puncionó con aguja Vacutainer (BD Biosciences, NJ, USA) 0.8 x 38 en la vena mediana preferentemente, se extrajeron dos tubos de 5 mL de sangre por presión negativa en un tubo con anticoagulante EDTA.

Extracción de DNA genómico (gDNA). La extracción de gDNA (DNA genómico) se realizó a partir de leucocitos totales de sangre periférica anticoagulada con EDTA, mediante la técnica modificada de Miller. Se determinó la concentración de gDNA para lo que se tomaron 1  $\mu$ L de cada muestra y se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 260 nm (longitud de onda para ácidos nucleicos) y 280 nm (longitud de onda para proteínas) en NanoDrop 2000c/2000 UV-Vis Spectrofotometro (Thermo Scientific). La relación gDNA/proteínas (A260/A280), debe ser de 1.8 a 2.0, para determinar que efectivamente no exista contaminación excesiva por proteínas y así se obtuvo. Se

prepararon diluciones de gDNA a una concentración final de 20 ng/L en un volumen final de 200  $\mu$ L, las cuales se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

Genotipificación para los alelos de HLA por baja resolución La tipificación de los polimorfismos para los genes de HLA clase I y clase II, se llevó a cabo mediante el estuche comercial Tepnel-Luminex SSO (*del inglés, Single Stranded Oligonucleotide*). Esta técnica se basa en la detección de la hibridación de una cadena del producto de PCR (obtenido con primers marcados en su extremo 5' con un fluorocromo), con una sonda específica de SSO unida a una perla con una combinación única de colorantes que absorben en el rojo e infrarrojo. La mezcla para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction) se llevará a cabo utilizando 15  $\mu$ L de la mezcla de reacción (master mix, incluido en el kit), 10  $\mu$ L de las diluciones de gDNA, 2.5 U de Taq polimerasa y agua para ajustar a un volumen final de 50  $\mu$ L. Posteriormente, se tomarán 5  $\mu$ L del producto amplificado y se agregaron 15  $\mu$ L de las perlas para la hibridación, la mezcla se colocó nuevamente en el termociclador con las siguientes condiciones: 1 ciclo a  $97^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos, 1 ciclo a  $47^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos y 1 ciclo a  $56^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. Al finalizar la reacción, la mezcla se mantuvo dentro del termociclador a  $56^{\circ}\text{C}$ , se agregaron 0.85  $\mu$ L de estreptovidina, se dejó reposar por 1 minuto y se leyó en el equipo luminex (Luminex 100 IS System) (57).

### **8.1. ASPECTOS ETICOS.**

De acuerdo a la Ley General de Salud en materia de Investigación en Salud, se trata de una investigación con riesgo mínimo.

Se sometió a revisión por los Comités Institucionales de Ética en Investigación, Bioseguridad e Investigación del ISSSTE, para su revisión y aprobación.

Los pacientes firmaron una carta de consentimiento informado previo a la inclusión del estudio, en donde se les explicó el propósito, los beneficios y riesgos que podrían presentarse en el curso de la investigación, así como también se les informó de sus derechos y responsabilidades al momento de estar incluidos. La decisión de participar en el estudio es responsabilidad solamente de los pacientes y sus familiares, así como de

retirarse del estudio cuando así lo deseen, su decisión no afectará de ningún modo la atención que reciben en el Centro Médico Nacional “20 de noviembre” ISSSTE.

Los datos recabados se mantendrán de manera confidencial, los datos solo serán manejados por el investigador principal y los investigadores involucrados en el presente protocolo de Investigación del CMN “20 de noviembre”. En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la Ley Federal de Protección de Datos: licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger los datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado.

Toda la información proporcionada se utilizará únicamente con fines de investigación y conforme al consentimiento informado.

Los investigadores confirmamos que la revisión de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización, que contamos con la capacidad para llevarlo a buen término, nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad, a salvaguardar la confidencialidad de los datos personales de los participantes en el estudio, pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo, y nos conduciremos de acuerdo a los estándares éticos aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud, Las Pautas Éticas Internacionales Para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la Organización Mundial de la Salud, así como la Declaración de Helsinki.

## **8.2. CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD**

Los procedimientos no alteran el procedimiento médico de diagnóstico ni el tratamiento del paciente que se realiza de rutina, y están basados en la mejor práctica clínica. La toma de muestras durante el estudio se realizó en apego al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, respetando las medidas pertinentes

para evitar cualquier riesgo o daño a los sujetos de investigación. Las muestras biológicas fueron adquiridas por el autor del presente trabajo y fueron identificadas, contenidas y almacenadas adecuadamente; el análisis y determinación se realizaron de acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio.

Finalmente, se trató y se eliminaron las muestras en bolsas apropiadas para su disposición: los desechos tanto de muestras biológicas y de material genético, fueron eliminados en un contenedor con una solución de cloro al 70% durante 24 horas para desactivarlo, posteriormente se desecharon en la tarja bajo chorro de agua. El material que ha estado en contacto con los residuos biológicos (como tubos, puntas, gasas, torundas, sanitas, etcétera) fue desechado en bolsas rojas. Mientras que todo el material punzocortante fue desechado en contenedores específicos para estos.

Lo anterior en cumplimiento con lo establecido en las disposiciones de la fracción 6 de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 de Residuos Biológico-Infeciosos.

## 9. RESULTADOS

Se estudiaron un total de once familias, de ellas únicamente 6 familias pudieron completar la fase de toma de muestras con al menos 2 familiares directos. De las 6 familias estudiadas, tenemos seis pacientes y dieciocho familiares, dando un total de veinticuatro individuos para su estudio (Figuras de la 1 a 6).

De los datos demográficos captados tenemos que la edad promedio de los receptores fue de 33 años, de los donadores fue de 53 años, mientras que de los otros familiares fue de 44 años.

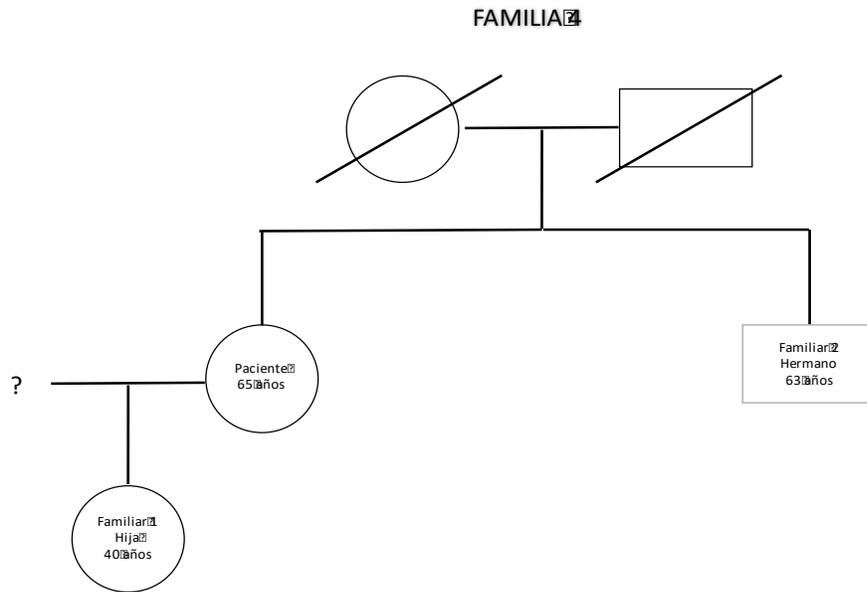
Debido a que en este centro existe referencia de pacientes provenientes de diferentes partes del país, todos los individuos analizados son caracterizados como mexicanos mestizos. Referente a la ancestría, el lugar de nacimiento dentro de la República Mexicana de todos los estudiados fue: Ciudad de México el 29%, 62.4% del Estado de México, de Oaxaca el 4.1%, de Veracruz el 4.1%; y tienen domicilio actual en la Ciudad de México el 41.6%, del Estado de México el 54% y 4.1% de Guanajuato.

En cuanto a los donadores de los pacientes el lugar de la República Mexicana del cual son originarios es: Guanajuato 6.2%, Estado de México 65.59%, Ciudad de México 6.83%, Hidalgo 0.68%, Durango 0.68%, Querétaro 8.31%, Ciudad Guzmán 6.25%, Veracruz 4.1% y Oaxaca 1.36%

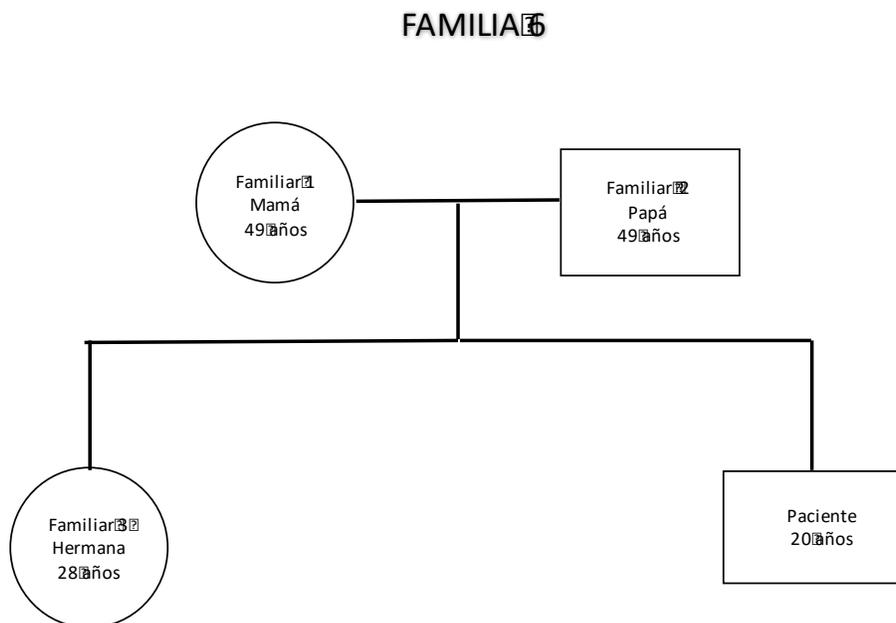
Mientras que el lugar de la República Mexicana del cual son originarios los familiares de los pacientes es: Guanajuato 6.2%, Estado de México 65.59%, Ciudad de México 6.83%, Hidalgo 0.68%, Durango 0.68%, Querétaro 8.31%, Ciudad Guzmán 6.25%, Veracruz 4.1% y Oaxaca 1.36%

De los pacientes estudiados el lugar de la República Mexicana del cual son originarios son 50% Ciudad de México y 50% Estado de México.

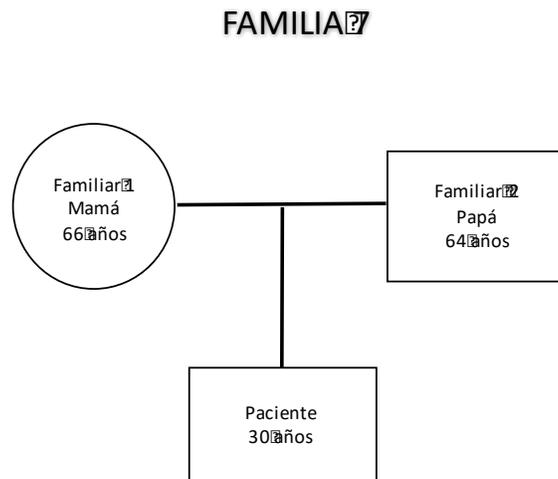
De las características sociales en esta muestra, no se observa que alguna de las actividades económicas sea de riesgo asociado.



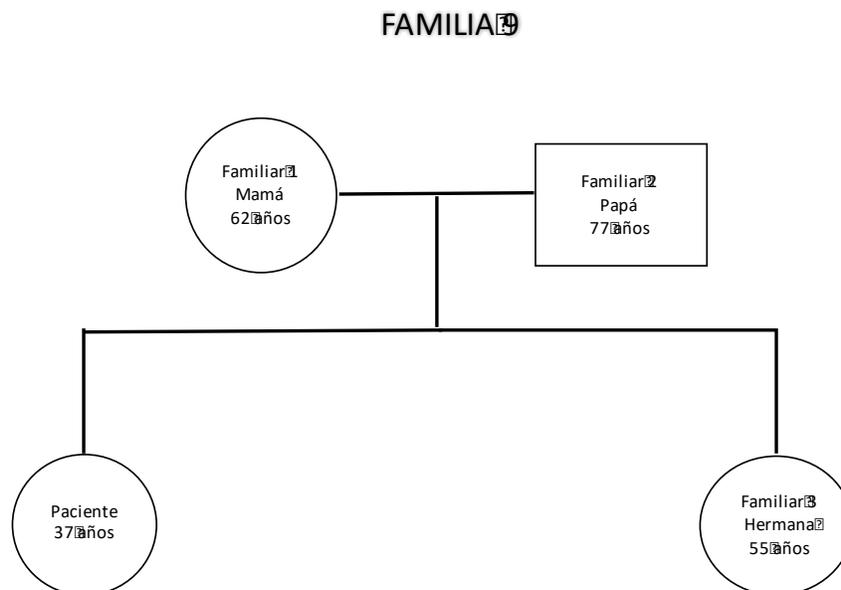
**Figura 1.** Familia 4, paciente femenina de 65 años con enfermedad renal etiología no filiada quien recibe injerto proveniente de su hermano a diez años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral cuatro años después de trasplante.



**Figura 2.** Familia 6, paciente varón de 20 años con enfermedad renal etiología secundaria a síndrome hemolítico urémico quien recibe injerto proveniente de su madre a tres años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral un año después de trasplante

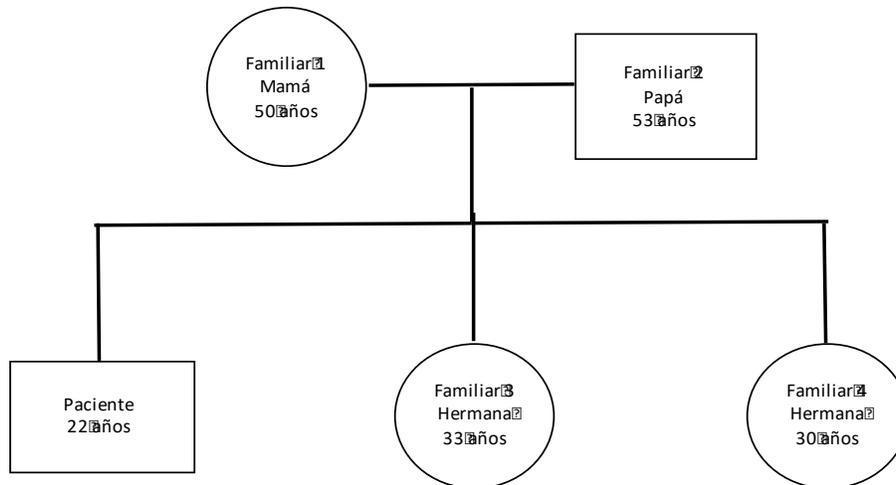


**Figura 3.** Familia 7, paciente varón de 30 años con enfermedad renal etiología no filiada quien recibe injerto proveniente de su madre a cuatro años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral un año después de trasplante



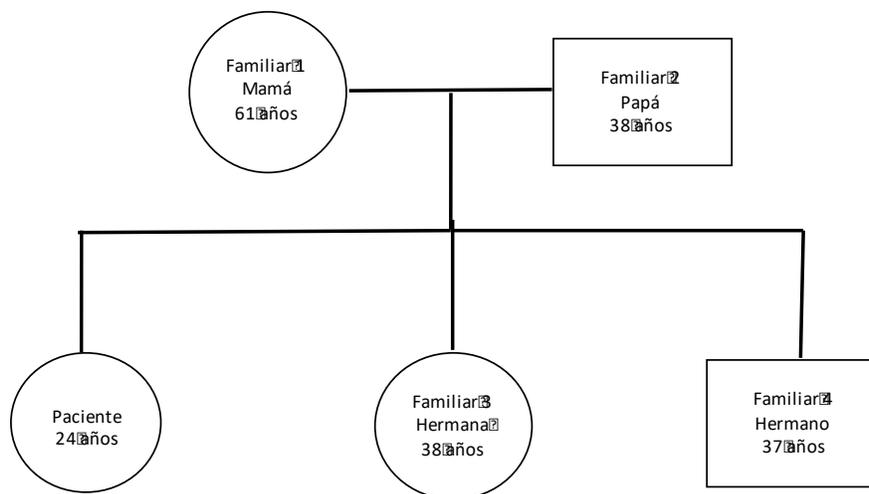
**Figura 4.** Familia 9, paciente femenina de 37 años con enfermedad renal etiología secundaria a vasculitis quien recibe injerto proveniente de su madre a nueve años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral siete años después de trasplante.

**FAMILIA 9**



**Figura 5.** Familia 10, paciente masculino de 22 años con enfermedad renal etiología no filiada quien recibe injerto proveniente de su madre a tres años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral un año después de trasplante

**FAMILIA 10**



**Figura 6.** Familia 10, paciente femenino de 24 años con enfermedad renal etiología no filiada quien recibe injerto proveniente de su madre a siete años de enfermedad renal crónica de riesgo inmunológico bajo, riesgo de citomegalovirus bajo, desarrolla rechazo humoral siete años después de trasplante

De los donadores analizados, solo uno presenta glaucoma, manejo con latanoprost y otro familiar con hipotiroidismo; solo uno de los familiares con dosis de levotiroxina 100 mcgr/día.

En cuanto a los antecedentes patológicos relacionados a la enfermedad renal actual (Tabla 1), de los seis pacientes, todos tienen enfermedad renal crónica estadio KDIGO G5 -según los criterios de 2012- (de sus siglas en inglés, *Kidney Disease Improving Global Outcomes*), el promedio de años con enfermedad renal crónica previo al trasplante fue de seis años y todos los pacientes estudiados tienen grupo sanguíneo O - Rh positivo.

**Tabla 1.** Características demográficas y clínicas de los pacientes y familiares

<b>Características</b>	<b>Pacientes n=6</b>	<b>Donadores n=18</b>
Sexo %		
Femenino	60	80
Masculino	40	20
Edad (años)	33	53.6
Región de procedencia	50% Ciudad de México, 50% Estado de México	Guanajuato 6.2% Estado de México 65.59% Ciudad de México 6.83% Hidalgo 0.68% Durango 0.68%, Querétaro 8.31%

		Ciudad Guzmán 6.25% Veracruz 4.1% y Oaxaca 1.36%
Causa de la enfermedad renal crónica	4 etiología no filiada 1 vasculitis 1 síndrome hemolítico urémico	Ninguno
Tiempo con Enfermedad Renal Crónica	7.6 años	Ninguno
Comorbilidades: Hipertensión arterial sistémica (%) Hipotiroidismo (%) Glaucoma (%)	100 16.6 -	- - 16.6
Tipo de sangre del donante y trasplantado	-	Tipo O, Rh positivo (100%)
Tipo de trasplante	Donador vivo	-
Sobrevida global	100%	-
Sobrevida de injerto	80%	-
Tipo de rechazo renal	Humoral	-
Tratamiento	Esteroides 100%, rituximab 33.2%, plasmaféresis 33.2%	-
Hiperparatiroidismo secundario	100%	-
Hallazgos de biopsia renal	Glomerulonefritis G1 100% Peritubulitis 33% Microangiopatía 0% Tubulitis 16% Capilaridad peritubular 33% Fibrosis íntimal 16%	-

	Arteritis 66%	
Anticuerpos anti- HLA de donador específico	0%	-

La etiología no filiada se encontró en cuatro pacientes, uno con glomeruloesclerosis focal y segmentaria primaria y otro con vasculitis tipo granulomatosis con poliangeítis. Al momento del estudio todas las enfermedades primarias se encontraban inactivas; como comorbilidades agregadas todos los pacientes tienen hipertensión arterial sistémica, pero ninguno de los pacientes estudiados presentó criterios de diabetes mellitus u otras comorbilidades.

De los fármacos administrados al momento del estudio se encuentran: antihipertensivos como telmisartán y metoprolol en el 80% de los pacientes a dosis de 80 mg/día y 50mg cada 12hrs respectivamente y todas las comorbilidades se encuentran en metas de tratamiento.

El tiempo promedio entre el trasplante a la fecha actual es de 3.6 años, el tiempo promedio de isquemia fría fue de 1.5 hrs durante el trasplante; previo al trasplante el 50% se encontraba en diálisis peritoneal y 50% en hemodiálisis; en ese momento todos los pacientes tuvieron un único trasplante y no ameritaron retrasplante, además ningún paciente desarrolló diabetes post-trasplante o desarrollaron anticuerpos de *novo* post-trasplante.

En cuanto a las complicaciones de enfermedad renal crónica todos tenían anemia pre-trasplante en metas (10-12.5gr/dL) según las últimas recomendaciones de KDIGO, todos desarrollaron anemia post-trasplante la cual remitió en el 100% al 6to mes del seguimiento.

También todos tenían hiperparatiroidismo secundario pre-trasplante y posterior al trasplante, cumplieron criterios de metas de niveles de hormona paratiroidea según KDIGO 2012; además cumplieron meta de niveles de calcio (de 8.5 a 10 mmol/L) y fósforo (menos de 7 mmol/L).

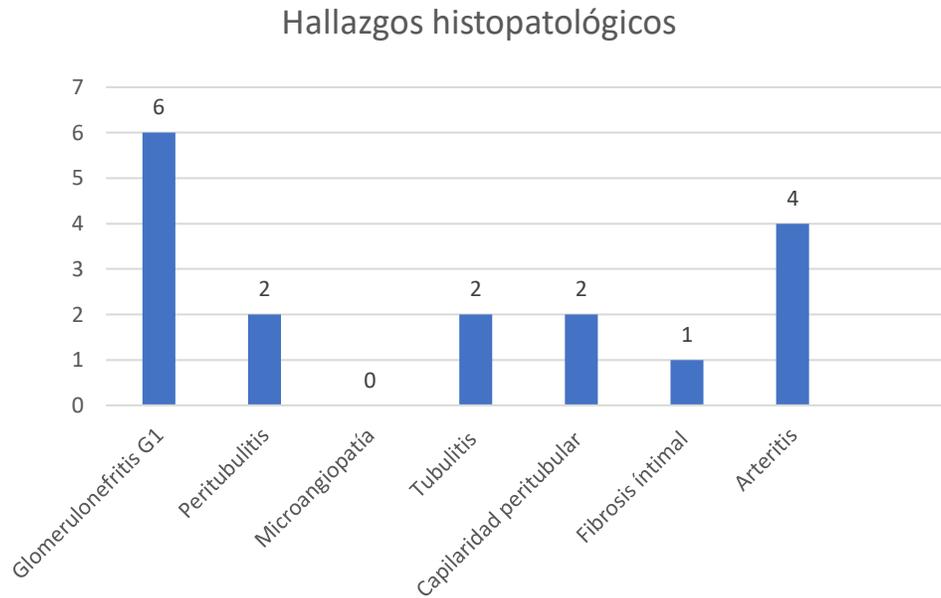
De los pacientes captados se determinó que algunos presentaron infecciones virales, de los cuales, el paciente de la familia número tres se detectó que presentaba infecciones urinarias de repetición, para lo cual se determinó que tenía infección por virus Bk (polioma virus Bk), lo que ameritó viraje de inmunosupresión de tacrolimus a ciclosporina y de micofenolato de mofetilo a zatioprina; este tratamiento permitió que remitiera carga viral para virus Bk y mejorará la recurrencia de infección urinaria. En cuanto a infección por citomegalovirus se presentó el paciente de la familia número cinco, ameritando completar esquema con valganciclovir, presentando remisión total de carga viral posterior a completar esquema antiviral.

En cuanto al medicamento de inducción por el riesgo inmunológico fue en cuatro pacientes basiliximab a dosis de 20mg en el día cero y 20mg en el día cuatro y dos pacientes usaron timoglobulina a dosis acumulada de 4.5mg/kg/día, correspondiente a riesgo inmunológico bajo y alto respectivamente. Todos los pacientes utilizaron de forma inicial triple esquema de inmunosupresión de mantenimiento con tacrolimus a dosis de 0.1mg/kg/día con niveles séricos meta de 10 a 12ng/ml en los meses 1 a 3 y 6-10 ng/ml posteriormente, micofenolato de mofetilo 720mg vía oral cada 12hrs y prednisona a dosis estándar con esquema de inducción de 1gr intravenoso cada 24hrs por 1 dosis y posteriormente esquema de reducción hasta 5mg vía oral de prednisona cada 24hrs indefinido. Sin embargo, como se mencionó anteriormente el paciente de la familia número tres viró tratamiento de tacrolimus a ciclosporina por presentar infección por virus BK, aunado a lo anterior se modificó la inmunosupresión de micofenolato a azatioprina. Todos los pacientes tuvieron niveles óptimos de tacrolimus y/o ciclosporina, conjuntamente todos recibieron profilaxis bacteriana, antimicótica con trimetoprim y fluconazol.

En cuanto a las complicaciones asociadas al episodio de rechazo todos desarrollaron disfunción aguda de injerto al momento de presentar el rechazo, en promedio aumentaron 2.7 mg/dl de creatinina sérica durante el episodio de disfunción aguda y posterior al evento disminuyó un promedio 1.2 mg/dl, regresando a la creatinina basal en 66% de los casos.

El manejo del rechazo todos los pacientes optimizaron inmunosupresión, de estos dos pacientes utilizaron rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>) y recambio plasmático terapéutico (5 ciclos en días alternos con hemofiltro a dosis de 1:1 de recambio plasmático respecto al volumen plasmático del paciente) y complementando manejo con inmunoglobulina humana (100mg/kg) posterior al uso de tres bolos de metilprednisolona.

En cuanto a los datos de la biopsia para el análisis de los reportes de biopsia se ajustaron los resultados a la clasificación actual de Banff publicada en 2017, se encontró que todos presentaron criterios de rechazo humoral agudo, de estos, cuatro de seis pacientes cursaron con rechazo crónico. Los hallazgos más frecuentes fueron presencia de glomerulonefritis (G1), pericapilaritubulitis (por sus siglas, PTC), arteritis (cinco de seis pacientes), dos pacientes con microangiopatía y dos pacientes con tubulitis. La remisión de rechazo fue evaluada de forma clínica, alcanzando tasas de 66% con base a creatinina sérica y dos pacientes con biopsia posterior al manejo con mejoría -de acuerdo a criterios de Banff 2017-. El resto de los pacientes sin criterios de remisión total o curación (Figura 7).



**Figura 7.** Análisis de los reportes de biopsia (ajustado a la clasificación de Banff 2017).

Del perfil inmunológico dos pacientes presentaron anticuerpos reactivos a un panel, el primero con un porcentaje para HLA clase I de 46% y otro 20%, siendo que el antígeno de HLA que se presenta en dos de los seis pacientes es el HLA-A\*02, con un promedio de MFI de 900-1000 (intensidad baja). En cuanto a los antígenos HLA clase II pre-trasplante se presentaron en dos pacientes con un promedio de anticuerpos reactivos a un panel de 27%.

## 10. DISCUSION

El entendimiento de la inmunobiología relacionada a la realización de trasplante renal es muy compleja. En el caso particular de pacientes que reciben injerto proveniente de donación vivo relacionado puede desarrollar rechazo a pesar de compartir genes (55).

La forma en que se expresa el genotipo de cada individuo para la respuesta inmunológica está determinada por los genes HLA, los cuales se encuentran en el cromosoma número 6 y se heredan de forma mendeliana; compuestos de dos haplotipos, uno derivado de la madre y otro del padre condicional que las siguientes generaciones tengan un entrecruzamiento de genes condicionando un haplotipo único por cada individuo (56). Esta individualidad particular permite que cada ser humano tenga un par de haplotipos y una respuesta inmunitaria particular (57).

Un punto muy importante es la modulación de la respuesta inmune, es decir inactivadores de la respuesta inmunitaria, esto es lo que permite la tolerancia inmunológica y evita episodios de rechazo (58).

Otros estímulos para el desarrollo de rechazo es la presencia de transfusiones sanguíneas, embarazo, infecciones, inmunosupresión no óptima y episodios de rechazo previo (58). Sin embargo, esto no explica todos los casos de rechazo, por lo que el perfil de HLA pretrasplante puede tener un papel fundamental para el desarrollo de rechazo humoral (59).

Es muy importante entender la función de vigilancia que tiene el sistema inmunológico. Todo empieza con las barreras naturales como piel, secreciones, glándulas sebáceas, grado de acidez o alcalinidad de secreciones, etc (60).

Posteriormente el ser humano posee un sistema de vigilancia activo mediado por dos tipos de inmunidad: la inmunidad innata mediada la respuesta inflamatoria aguda que se da por células presentadoras de antígeno (neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, mastocitos y células asesinas naturales) y la inmunidad adquirida mediada por linfocitos T, linfocitos B mediado por la interacción compleja de receptores semejantes Toll (TLRs) y la compleja relación del sistema de complemento y citocinas. (61).

De manera inicial el organismo es afectado por agentes como radiación, infecciones, agresores externos, etc. El organismo responde mediante la activación de células presentadoras de antígenos, los cuales tienen la capacidad de defenderse debido a que se capacitan de dos formas: una es mediante su actividad intrínseca (codificada genéticamente) y otra es capacitación de forma activa conforme se expone a nuevos agentes (62). Esto despierta una activación y reclutamiento celular por parte de la médula ósea para generar clonas de células que estén capacitadas específicamente para agredir agentes no sólo de forma general sino también específica. Esta vigilancia tisular y sérica ocasiona una interacción entre el agente y las células presentadoras de antígeno lo cual degrada parcial o totalmente el agresor. Condicionando expresión de epítopes o antígenos en la superficie de membrana de estas células de inflamación; esto condiciona que exista el puente entre la inmunidad innata y la adquirida. Por otra parte, los linfocitos (efectores de la inmunidad adquirida) se producen en cantidades constantes en la médula ósea y se “capacitan” en tejidos linfoides, es decir se activan en respuesta a su interacción con las células presentadoras de antígenos para reconocer de forma periférica la presencia del agente agresor. Esto condiciona activación de dos subtipos de linfocitos los ayudadores Th 1 y Th2. Los Th2 ocasionan a su vez liberación de citoquinas locales y distantes lo que activa otro subtipo de linfocitos: los linfocitos B, los cuales se diferencian en dos subtipos dependiendo de la interleucina que los activo en linfocitos B activos que producen anticuerpos que van a marcar de forma dirigida al agresor y linfocitos B de memoria que quedan circulantes y disponibles en caso de la interacción posterior con el agresor (63). La interacción de linfocito T y B con el agresor ocasiona la activación del receptor de linfocitos T lo que condiciona la activación de tres señales intracelulares mediadas por receptores de CD (de sus siglas del inglés, *cluster of differentiation*) tipo 52 y 25; y una respuesta intracelular mediada por proteincinasas, proteínas Janus, vía mtor (rapamicina) y la activación de la vía de las calcineurinas; todas que concluyen en la subsecuente activación trascricional de los linfocitos T. Es en estos puntos donde los inmunosupresores pueden ocasionar inhibición de la activación leucocitaria para impedir rechazo (64).

Debido a la complejidad de las vías activadoras aún no se describen todas las vías implicadas que pueden dar respuesta inmune, sin embargo, el producto de esto es

inactivación del agente externo y producción de agentes circulantes que protegen para un nuevo contacto con el huésped (65).

Esta activación leucocitaria esta codificada de forma genética. Siendo que se ha sido heredado a través de la interacción histórica del ser humano con agentes agresores. Por lo cual explica que aspectos demográficos, históricos, ambientales, la presencia o no de agentes externos como temperatura, presencia de virus, parásitos, bacterias, hongos regionales, etc. (66). Puedan explicar diferencias en la codificación genética de ciertas poblaciones humanas. Si tomamos en cuenta la historia del ser humano podemos entender que además intervienen factores como aislamiento geográfico o grandes movilizaciones en caso de cambios de residencia. Sin embargo, el desarrollo de grupos con genes determinados es un proceso dinámico, en el cual con cada nueva generación existe entrecruzamiento genético (65). Esto además en la actualidad como parte del proceso de globalización tiene importancia radical debido a que se esperan mezclas previamente no vistas en el genoma humano que pueden condicionar presencia o no de factores inmunológicos favorables o desfavorables. Es en este punto donde la ancestría toma valor para la presencia de un cierto código genético asociado, lo que explica la presencia de enfermedades o factores protectores para ellas, que se presenta en ciertas poblaciones (67).

En nuestro Centro Médico Nacional, se reciben pacientes provenientes de diferentes partes de la República Mexicana. Se considera un centro de referencia Nacional para la realización de trasplante renal. Obteniendo así características demográficas variables que permitieron obtener una muestra heterogénea que representa una pequeña población de México.

La población mexicana se ha desarrollado a través del tiempo mediante una historia particular, generando mezclas entre razas indígenas oriundas de la región y la mezcla de razas provenientes de África, Oceanía, y Europa lo que ha generado una mezcla de haplotipos particular. Es por ello que estudiar la ancestría en esta población es fundamental para determinar si existe relación entre los HLA y el riesgo de desarrollar rechazo humoral en pacientes trasplantados de donación vivo relacionado (68).

En el presente estudio denota que la principal causa de enfermedad renal crónica en los receptores es causa desconocida, seguida de glomerulopatías primarias, esto supone que además del perfil inmunológico de los donadores puede existir otra causa relacionada a la etiología primaria de la enfermedad renal que puede estar relacionada con el desarrollo de rechazo, como pueden ser alteraciones hormonales, desarrollo de auto anticuerpos, alteraciones de vías de complemento, etc. Aparentemente el tipo de terapia de reemplazo renal es indiferente ya sea hemodiálisis o diálisis peritoneal, ya que no hay diferencias en los resultados de estos dos grupos. El tiempo de enfermedad renal pretrasplante, así como el periodo postrasplante no parecen suponer un riesgo para desarrollar rechazo. La presencia de comorbilidades tampoco supone un factor de riesgo asociado ya que la hipertensión arterial sistémica es un factor común de la mayoría de pacientes con enfermedad renal crónica estadio terminal, siendo que no todos presentan rechazo asociado. El perfil inmunológico pre trasplante, y los niveles óptimos de inmunosupresión coinciden con literatura internacional como factores asociados a rechazo, sin embargo, en nuestra población no supone un factor de riesgo. El tipo de inducción ya sea con basiliximab o timoglobulina tampoco se relacionaron con rechazo. De los hallazgos histopatológicos obtenidos en la biopsia renal tampoco pudimos asociar a ninguna variable antes expuesta por lo que estos hallazgos se pueden desarrollar independientemente de los factores de riesgo (69).

Por tanto, se ha realizado la medición de HLA en familiares y pacientes con antecedente de rechazo humoral, proveniente de injerto de donación vivo relacionado. De los resultados se obtiene que la incidencia de la población mayoritariamente es de la Ciudad de México con ancestros de la misma ciudad, obteniendo como único factor asociado la presencia de antígenos HLA A02\* del complejo mayor de histocompatibilidad clase I como único factor de riesgo asociado a rechazo en esta población.

Con los resultados comentados en este momento no podemos suponer diferencias regionales de nacimiento o residencia de los pacientes para dar un factor de riesgo asociado a rechazo debido a que la población es pequeña, pero en nuestra población

existen más pacientes nacidos en Ciudad de México, lo que supone un punto de interés para nuevos estudios.

En relación a estudios previos nacionales concuerda en la necesidad de tener una población mayor, en la complejidad para poder realizar asociaciones específicas y en la importancia de obtener muestras para poder decodificar el HLA en población hispana para poder concretar en un futuro algún factor de riesgo genético asociado a rechazo humoral.

El presente estudio pretende cimentar bases de este análisis en esta población. Se requiere una población mayor para obtener resultados concluyentes.

## **11. CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS**

Uno de los factores de riesgo asociados al rechazo pudiera ser la presencia de ciertos antígenos leucocitarios humanos que se presentan en el perfil inmunológico de pacientes que reciben injerto renal de donación vivo relacionado. El presente estudio pretende iniciar la exploración del complejo matiz de herencia que puede darse bajo dichos parámetros (70).

Como limitaciones del presente estudio se tiene una población pequeña y heterogénea para la cual se requiere una población mayor para poder determinar si existe asociación entre la ancestría y el desarrollo de HLA relacionados con rechazo humoral en pacientes con trasplante renal proveniente de donación vivo relacionado.

A futuro, se puede originar mayor conocimiento y continuar desarrollando estudios que puedan determinar un factor genético determinante como factor de riesgo para el desarrollo de este tipo de rechazo.

## 12. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Abbes, S., Metjian, A., Gray, A., Martinu, T., Snyder, L., Chen, D. Onwuemene, O. (2017). Human Leukocyte Antigen Sensitization in Solid Organ Transplantation: A Primer on Terminology, Testing, and Clinical Significance for the Apheresis Practitioner. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 21(5), 441–450
- [2] Aguirre-Beltrán G. La población negra de México. Estudio etnohistórico. 2° ed. México: Fondo de Cultura Económica; 1972.
- [3] Alelign, T., Ahmed, M. M., Bobosha, K., Tadesse, Y., Howe, R., & Petros, B. (2018). Kidney Transplantation: The Challenge of Human Leukocyte Antigen and Its Therapeutic Strategies. *Journal of Immunology Research*, 2018, 1–18
- [4] Althaf, M. M., El Kossi, M., Jin, J. K., Sharma, A., & Halawa, A. M. (2017). Human leukocyte antigen typing and crossmatch: A comprehensive review. *World Journal of Transplantation*, 7(6), 339–348.
- [5] Alves C., Souza T., Meyer I., Toralles M. y Brite C. Immunogenetics and infectious diseases: special reference to the Mayor Histocompatibility Complex. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2006;10(2):122-131
- [6] Barquera R, Zúñiga J, Hernández-Días R, et al. HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Molecular Immunology*. 2008; 45:1171-1178.
- [7] Bestard O, Nickel P, Cruzado JM, Schoenemann C, Boenisch O et al. Circulating alloreactive T cells correlate with graft function in longstanding renal transplant J *Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 1419-1429
- [8] Castro J. Clinical renal transplantation: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1978, Vol 71, 44-49.

- [9] Centro Médico «Lic. Adolfo López Mateos» de Toluca, *Revista Mexicana de Trasplantes*, Vol. 4, Núm. 1, enero-abril 2015,8-12.
- [10] Corton R., Wilming L., Lovering R., Bruford E., Khodiyar V., Lush M., Povey S., Talbot S., Wright M., Wain H., Trowsdale J., Ziegler A. and Beck S. Gene map of the extended human MHC. *Nature reviews genetics* 2004; 5:889-899.
- [11] L. D. Mathers, «Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030,» *PLoS Med* , p. 3(11) 442, 2006.
- [12] A. Zumrutdal, «Atherosclerosis in haemodialysis patients without significant comorbidities :Determinants of progression,» *Nephrology*, pp. 489-493, 2006.
- [13] S. G. Salanova Villanueva, «Bone mineral disorder in chronic kidney disease: Klotho and FGF23; cardiovascular implications.,» nº 36, 2016;36:368-75.
- [14] Chong, A. S., Rothstein, D. M., Kassem, S., & Riella, L. V. (2019). Minireview on Outstanding Questions in Transplantation: B Cells, Alloantibodies, and Humoral Rejection. *American Journal of Transplantation*
- [15] Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries, *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(10):2208.
- [16] Collins F. What we do and don't know about "race", "ethnicity", genetics and health at the dawn of the genome era. *Nature Genetics Supplement*. 2004;36(11): S13-S15
- [17] Copley, H. C., Elango, M., & Kosmoliaptsis, V. (2018). Assessment of human leukocyte antigen immunogenicity. *Current Opinion in Organ Transplantation*
- [18] Cozzi, E., Colpo, A., & De Silvestro, G. (2017). The mechanisms of rejection in solid organ transplantation. *Transfusion and Apheresis Science*, 56(4), 498–505.

- [19] Cruz R, Contreras G, Jaramillo R, et al. Trasplante renal: experiencia de 10 años. Hospital Regional 1° de Octubre, ISSSTE. Boletín del Colegio Mexicano de Urología. 2002, Vol. XVII, No. 3, 125- 128.
- [20] Eckels DD. Solid phase testing in the HLA laboratory: implications for organ allocation. *Int J Immunogenet* 2008; 35:265-274.
- [21] Fernández-Viña M, Hollenbach J, Lyke K, et al. Tracking human migrations by the analysis of the distribution of HLA alleles, lineages and haplotypes in closed and open populations. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2012; 367:820-829
- [22] Filippone, E. J., & Farber, J. L. (2015). Humoral Immune Response and Allograft Function in Kidney Transplantation. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(2), 337–347.
- [23] Galián, J. A., Mrowiec, A., & Muro, M. (2016). Molecular targets on B-cells to prevent and treat antibody-mediated rejection in organ transplantation. Present and Future. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 20(7), 859–867.
- [24] Granados A. J., Álvarez C. C., Lara M. A., Reyes S. M., Valdés C. L., & Berdichevsky K, “Capítulo: Bases Inmunogenéticas de la Diabetes mellitus tipo 1” en *Genética Clínica*. Guizar-Vázquez J. y Safra editores. 4ª ed. Editorial Panamericana. 2011.
- [25] Gupta, G., Abu Jawdeh, B. G., Racusen, L. C., Bhasin, B., Arend, L. J., Trollinger, B. Alachkar, N. (2014). Late Antibody-Mediated Rejection in Renal Allografts. *Transplantation*, 97(12), 1240–1246
- [26] . Halloran PF, Wadgymer A, Ritchie S, et al. The significance of anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I mediated rejection. *Transplantation* 1990; 49:85-91
- [27] Hernández-ibarra, Luis Eduardo; Mercado-Martínez, Francisco Javier; Martínez-Castañeda, Anabel. Organ donation and transplantation in Mexico. A

transplantation health professionals' perspective. *Salud Pública de México*, [S.I.], v. 59, n. 1, Ene-feb, p. 53-58, ene. 2017. ISSN 1606-7916

- [28] Hernández-Rivera J, González-Ramos J, Pérez-López M, et al. The most common HLA antigens found in patients with renal transplants at the specialties hospital of "La Raza" Medical Center, México. *Transplantation Proceeding*. 2016(a); 48:572-574.
- [29] Hernández-Rivera J, Ibarra-Villanueva A, Espinoza-Pérez R, et al. Specific antigens by Federal Entity in patients at the trasplant unit of specialities Hospital, National Medical Center Twenty- First Century, México. *Transplantation Proceeding*. 2016(b); 48:575-577.
- [30] Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). *La migración en Puebla. XII Censo General de Población y Vivienda 2000*. 2005. Aguascalientes. *Investigación Clínica*. 2011;63(4):370-375.
- [31] Jacquemont L, Souillou JP, Degauque N, et al. Blood biomarkers of kidney transplant rejection, an endless search, *Expert Rev Mol Diagn*. 2017 jun 7:1-11.
- [32] Jager NM, Poppelaars F, Daha MR, et al. Complement in renal transplantation: The road to translation, *Mol Immunol*. 2017 May 27. pii: S0161-5890(17)30137-2
- [33] Jorde L y Wooding S. Genetic variation, classification and "race". *Nature Genetics Supplement*.
- [34] Juárez-Cedillo T. Zúñiga J, Acuña-Alonzo V. Genetic admixture and diversity estimations in the Mexican Mestizo population from Mexico City using 15 STR polymorphic markers. *Forensic Sci Int Genet*. 2008;2: e37-9.
- [35] Kim, M., Martin, S. T., Townsend, K. R., & Gabardi, S. (2014). Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation: A Review of Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment Options. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 34(7), 733–744

- [36] Knap L. A. The ABCs of MHC. *Evolutionary Anthropology*. 2005; 14:28-37.
- [37] Luo, H.-H., Fan, R., Dvorina, N., Chiesa-Vottero, A., & Baldwin, W. M. (2014). Platelets in Early Antibody-Mediated Rejection of Renal Transplants. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(4), 855–863. Win, T. S., & Pettigrew, G. J. (2010). Humoral Autoimmunity and Transplant Vasculopathy: When Allo is Not Enough. *Transplantation Journal*, 90(2), 113–120.
- [38] LaRosa D, Rahaman A y Turka L. The innate immune system in allograft rejection and tolerance.
- [39] Lee SA, Noel S, Sadasivam M, et al. Role of immune cells in acute kidney injury and repair.
- [40] Loupy A, Haas M, Solez K, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology, *American Journal of Transplantation* 2017; 17: 28–41
- [41] Loupy, A., Lefaucheur, C., Vernerey, D., Chang, J., Hidalgo, L. G., Beuscart, T. Halloran, P. F. (2014). Molecular Microscope Strategy to Improve Risk Stratification in Early Antibody-Mediated Kidney Allograft Rejection. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(10), 2267–2277
- [42] Luque, S., Lúcia, M., & Bestard, O. (2017). Refinement of humoral immune monitoring in kidney transplantation: the role of “hidden” alloreactive memory B cells. *Transplant International*, 30(10)
- [43] Malhotra P. Immunology of trasplant rejection. *Immunology of trasplant rejection:overview, history, types of grafts*. 2017-6-18.
- [44] Marr J y Kiracofe J. Was the huey cocoliztli a hemmorrhagic fever. *Med Hist*. 2000; 44:341-62.
- [45] Martin, P. J., Levine, D. M Petersdorf, E. W. (2013). Genetics of graft-versus-host disease: The major histocompatibility complex. *Blood Reviews*, 27(1), 1–12

- [46] Miller SA, Dykes DD & Pulesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 1988; 16(3): 1215-1219.
- [47] Mizutani K, Terasaki P, Rosen A. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant* 2005; 5: 2265–2272.
- [48] Montgomery, R. A., Tatapudi, V. S., Leffell, M. S., & Zachary, A. A. (2018). HLA in transplantation. *Nature Reviews Nephrology*, 14(9), 558–570
- [49] Mosquera J.M, Vázquez E, et al. Criterios diagnósticos de rechazo mediado por anticuerpos en el trasplante renal, *Nefrología* 2011;31(4):382-91
- [50] Nankivell B y Alexander S. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 2010; 363:145-162.
- [51] . Nieto-Ríos JF, Ramírez-Barrera JD, Álvarez CM, et al. Papel del linfocito B en el rechazo crónico del trasplante, *Medicina & Laboratorio* 2010; 16: 41-64
- [52] Pascual M, Theruvath T, Tolkoff-Rubin, et al. Strategies to improve long term Outcomes after renal Transplantation, *N Engl J Med*,2002, Vol 346, No 8,580-59
- [53] .Porcheray, F., DeVito, J., Helou, Y., Dargon, I., Fraser, J. W., Nobecourt, P. Zorn, E. (2012). Expansion of Polyreactive B Cells Cross-Reactive to HLA and Self in the Blood of a Patient with Kidney Graft Rejection. *American Journal of Transplantation*, 12(8), 2088–2097.
- [54] Qureshi, M. S., Alsughayyir, J., Chhabra, M., Ali, J. M., Goddard, M. J., Devine, C. Pettigrew, G. J. (2018). Germinal center humoral autoimmunity independently mediates progression of allograft vasculopathy. *Journal of Autoimmunity*
- [55] Racusen LC, et al. The Banff 97 Working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int*.

- [56] Rubi-Castellanos R, Martínez-Cortés G, Muñoz-Valle J, et al. Pre-Hispanic Mesoamerican demography approximates the presents-day ancestry of Mestizos throughout the territory of Mexic. *Am J Phys Anthropol.* 2009; 139:284-94.
- [57] Sawitzki B, Schlickeiser S, Reinke P, Volk HD. Pretransplant immune risk assessment. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009; 14: 650-655.
- [58] Shabir, S., Girdlestone, J., Briggs, D., Kaul, B., Smith, H., Daga, S. Borrow, R. (2015). Transitional B Lymphocytes Are Associated with Protection from Kidney Allograft Rejection: A Prospective Study. *American Journal of Transplantation*, 15(5), 1384–1391
- [59] Shankarkumar U. The Human Leukocyte Antigen (HLA) System. *Int J Hum Genet.* 2004;4(2):91- 103.
- [60] Sharma, A., Lewis, J. R., Lim, W. H., Palmer, S., Strippoli, G., Chapman, J. R., ... Wong, G. (2018). Renal transplant outcomes and de novo donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies: a systematic review. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33(8), 1472–1480.
- [61] Shi, X., Han, W., & Ding, J. (2017). The impact of human leukocyte antigen mismatching on graft survival and mortality in adult renal transplantation. *Medicine*, 96(49), e8899.
- [62] Sociedad de Médicos Fundadores. 1961-2011 50 Aniversario Centro Médico Nacional “20 de noviembre” y su Sociedad de Médicos Fundadores. Edición Especial, Vol. II, Año IV, No. 21.
- [63] Storer, B. E., Warren, E. H., Zheng, X., Nelson, S. C. Hansen, J. A. (2016). Genome-wide minor histocompatibility matching as related to the risk of graft-versus-host disease. *Blood*, 129(6), 791–798.
- [64] Terán O, Diaz M, Alvarez B, et al. Los Trasplantes de órganos y tejidos en México. *Medicina Universitaria.* 2001, vol 3, no. 12, 191-194

- [65] Terasaki P, Mizutani K, et al. Antibody mediated rejection: update 2006, Clin J Am Soc Nephrol.2006;1(3):400
- [66] Torres-Machorro A, Camorlinga-Tagle N, Rodríguez-Ortiz D, et al. Role of Major Histocompatibility Complex and ethnicity in acute renal graft rejection. Transplantation Proceeding. 2010; 42:2372- 2375.
- [67] Traherne J. A. Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies. International Journal of Immunogenetics. 2008;35;179–192
- [68] Valdez Rafael. Trasplante renal, El Residente, Vol. 3 Número 3. Septiembre-diciembre 2008 pp 97-103.
- [69] Vargas-Alarcón G, Granados J, Rodríguez-Pérez JM, et al. Distribution of HLA class II aleles and haplotype in mexican mestizo population: comparison with other population. Immunological Investigations. 2010;39;268-238.

### 13. ANEXOS.

#### Anexo 1. Número de registro del protocolo.

 <b>ISSSTE</b> INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO	<b>CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"</b> Subdirección de Enseñanza e Investigación Coordinación de Investigación
<i>"2017, AÑO DEL CENTENARIO DE LA PROMULGACIÓN DE LA CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS"</i>	
Oficio No. 96.2.2.1.3.2/271/2018 Asunto: <b>Aceptación de Protocolo</b>	Ciudad de México a 07 de Febrero de 2018
<b>Dra. Mónica Escamilla Tilch</b> Investigador Responsable Presente.	
<p>Le comunicamos, que su proyecto de investigación titulado: <b>Identificación de los alelos del antígeno leucocitario humano (HLA) en familias de pacientes sometidos a trasplante renal y su etnicidad. Con Número 073.2018 folio de la jefatura de departamento de investigación como resultado de proceso de revisión, en el que integrantes de las Comisiones de Investigación, de Ética en Investigación y Bioseguridad del Centro Médico Nacional "20 De Noviembre", aprobaron y dictaminaron procedente su realización.</b></p>	
<p>A partir de este momento <b>será responsabilidad del investigador principal, realizar a satisfacción los objetivos del proyecto aprobado, así como dar cumplimiento de lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y a las buenas prácticas clínicas que indican la Secretaría de Salud y el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado; deberá cumplir ante esta Coordinación y a los comités de Ética en Investigación y en su caso al de Bioética con los informes semestrales de la evolución del proyecto y de ser procedente del manejo de presupuesto, y si así lo amerita su investigación copia de la carta de consentimiento bajo información de todos los pacientes que participen, este consentimiento deberá incluir el número de expediente, dirección, dirección electrónica y teléfono de cada uno de los pacientes reclutados en el entendido de que esta información es confidencial y será susceptible de ser auditada por el comité de ética en investigación.</b></p>	
<p><b>Es responsabilidad del investigador principal notificar sobre cualquier efecto adverso ocurrido en los pacientes en investigación tanto a la Comisión de Ética a través de esta coordinación, al Comité de Farmacovigilancia como a la Secretaría de Salud (COFEPRIS) y en los formatos correspondientes y tiempos obligatorios al tipo de evento a reportar.</b></p>	
<p>Con el fin de dar cumplimiento a la reglamentación en investigación vigente en México y a la que estará obligado (a) es necesario acceda al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación, al "Consejo de Salubridad General, a la comisión para la Certificación de Establecimientos de Atención Médica, Estándares para la Certificación de Hospitales en Investigación" así como a la Comisión Nacional de Bioética.</p>	
<p>Las autoridades de este <b>Centro Médico Nacional "20 De Noviembre"</b> están comprometidas con impulsar la investigación en salud bajo los más estrictos estándares científicos y éticos contemplados en la legislación Mexicana y en los tratados internacionales que se han suscrito por lo que le felicita por su interés en materia.</p>	
<p>Deseándole que esta investigación cumpla los propósitos que se han planteado, sin otro particular, quedamos de usted.</p>	
<b>Atentamente</b>  <b>Dr. Paul Mondragón Terán</b> Coordinador de Investigación	<b>Vo. Bo.</b>  <b>Dr. Mauricio Di Silvio López</b> Subdirector de Enseñanza e Investigación.
 <b>Dra. Mónica Escamilla Tilch</b> Aceptación del Investigador Fecha: 7 febrero 2018	
<small>c.c.p. Minuta de la Coordinación de Investigación PMT/abg</small>	
<small>Av. Félix Cuevas 540 Col. Del Valle, C.P. 03100 Delegación Benito Juárez, Ciudad de México Tel: (55) 52005003 Ext. 14613 <a href="http://www.gob.mx/issste">www.gob.mx/issste</a></small>	

## Anexo 2. Carta de consentimiento informado.



“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”



C.M.N. “20 de Noviembre”

### CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN EN SALUD.

#### FAMILIARES

**NOMBRE DEL ESTUDIO: “IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**

México, Ciudad de México a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_.

Por favor tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga. Para decidir si participa o no, deberá tener el conocimiento suficiente acerca de los beneficios y riesgos del presente estudio de investigación, este estudio no le causará ningún costo.

Estimado(a) Señor(a): \_\_\_\_\_, se le invita a participar en el estudio llamado “IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”, que se desarrolla en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE en el área de Investigación, cuyo objetivo será determinar varios puntos: 1) ¿Cómo algunos genes influyen en el rechazo al trasplante de riñón de mi familiar? 2) ¿Cómo estos genes influyen para que la respuesta sea más agresiva en algunos pacientes y otros no? 3) Se analizará si estos genes son característicos de nuestra población, por lo que se realizará un cuestionario de “ancestría” ya que es importante saber ¿Cómo estos genes se heredan de padres a hijos? 4) Además, sabremos de qué estado de la República Mexicana son originarios tanto los pacientes al igual que sus familiares, si hablan alguna lengua distinta al español-castellano, las características de la vivienda (ya que es distinta entre los Estados) y si alguno de sus familiares participan en el estudio. Como usted ya ha leído, el entender cómo influyen nuestros genes en las enfermedades es muy importante para nosotros, por lo que también le solicitamos que nos permita usar sus muestras sanguíneas y relacionarlo a este tema de investigación, ya que se requiere determinar los genes en personas sanas para conocer a la población mexicana mestiza, saber ¿cuáles son nuestras características genéticas? y ¿por qué su familiar desarrolla la enfermedad y otros integrantes de la familia no?

Su participación en el estudio consiste en la donación de dos muestras de sangre de 5 ml cada una, a partir de las cuales, se analizará los genes que se estudiarán (HLA). La toma de las muestras será obtenida por los médicos tratantes, los efectos adversos por dicha toma de sangre son mínimos y puede incluir, moretones en el sitio de la punción (hematoma) o dolor local, los cuales, en caso de presentarse, usualmente desaparecen en 1 o 2 días; sin embargo, en caso de ser necesario, podrá contar con atención médica pertinente.



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**



**C.M.N. “20 de Noviembre”**

Se me ha informado que el análisis y obtención de resultados toma aproximadamente 6 meses, por lo que después de ese tiempo yo podré obtener los resultados, contactando al investigador principal. En caso de sobrar muestra los investigadores procederán a la eliminación del mismo, conforme a lo estipulado por la normatividad vigente (NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002 PROTECCIÓN AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECTIOSOS - CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO).

**BENEFICIOS:**

A pesar de que **no existe un beneficio directo** para usted, el presente estudio tendrá el beneficio de conocer cuáles son los genes que tiene, además esto permitirá desarrollar conocimientos para mejorar la atención de todos aquellos pacientes mexicanos que tengan un rechazo al trasplante de riñón. Gracias a su participación altruista, se podría beneficiar a otros pacientes al encontrar nuevas formas de atender y mejorar su calidad de vida.

**RIESGOS:**

Su participación no conlleva riesgo alguno para su salud, la toma de muestra sanguínea se llevará a cabo por personal experto y en caso de presentar algún moretón por dichos procedimientos se le brindará la atención médica pertinente e inmediata.

**PARTICIPACIÓN:**

Su participación es **VOLUNTARIA**, usted puede decidir libremente participar o no, esto no afectará la atención de su familiar en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE. Además, se me ha informado que soy libre de solicitar mi retiro del estudio y de mi muestra en cualquier etapa del mismo.

**MANEJO DE LA INFORMACIÓN:**

En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la Ley Federal de Protección de Datos: licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger sus datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado. Toda la información proporcionada se utilizará con fines de investigación y conforme al consentimiento informado, entendiendo que todos los resultados durante el desarrollo de la misma. Así mismo, se me ha informado que mi nombre no será revelado ni utilizado de forma pública en ninguna etapa del desarrollo de este protocolo de investigación.

**PARTICIPANTE:**

Confirmando haber recibido información suficiente y clara sobre el estudio propuesto, doy mi autorización para ser incluido en este proyecto de investigación, reservándome el derecho de abandonarlo en cualquier momento si así lo decido.

---

Firma y nombre del participante

Dirección y teléfono del participante:

---

---



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**

C.M.N. “20 de Noviembre”



TESTIGOS:

(1) Nombre y firma \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

(2) Nombre y firma \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

INVESTIGADOR O MÉDICO QUE INFORMA: \_\_\_\_\_

SERVICIO: \_\_\_\_\_

Le he explicado al/a la Sr(a) \_\_\_\_\_, la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He dado respuesta a todas sus dudas y le he preguntado si ha comprendido la información proporcionada, con la finalidad de que pueda decidir libremente participar o no en este estudio. Acepto que he leído, conozco y me apego a la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos, que pondré el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación, por encima de cualquier otro objetivo.

INVESTIGADOR RESPONSABLE.

\_\_\_\_\_  
**Dra. Mónica Escamilla Tilch**  
Adscrita a la coordinación de Investigación  
Teléfono de contacto: 52005003 ext. 50188

Para cualquier duda o aclaración favor de contactar a la Dra. Zoe G. Sondón García, Presidente del Comité de Ética e Investigación, teléfono de contacto 52005003 ext. 14296 y 14243.



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**

C.M.N. “20 de Noviembre”



**CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO  
DE INVESTIGACIÓN EN SALUD.**

**PACIENTES**

**NOMBRE DEL ESTUDIO: “IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO  
(HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**

México, Ciudad de México a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20\_\_.

Por favor tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga, para decidir si participa o no deberá tener el conocimiento suficiente acerca de los beneficios y riesgos del presente estudio de investigación, este estudio no le causará ningún costo.

Estimado(a) Señor(a): \_\_\_\_\_, se le invita a participar en el estudio llamado “IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”, que se desarrolla en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE en el área de Investigación, cuyo objetivo será determinar varios puntos: 1) ¿Cómo algunos genes influyen en la manera en que el cuerpo rechaza el trasplante de riñón? 2) ¿Cómo estos genes influyen para que la respuesta sea más agresiva en algunos pacientes y otros no? 3) Se analizará si estos genes son característicos de nuestra población, por lo que se realizará un cuestionario de “ancestría” ya que es importante saber ¿Cómo estos genes se heredan de padres a hijos? 4) Además, sabremos de qué estado de la República Mexicana son originarios al igual que sus familiares, si hablan alguna lengua distinta al español-castellano, las características de la vivienda (ya que es distinta entre los Estados) y si alguno de sus familiares participan en el estudio. Como usted ya ha leído, el entender cómo influyen nuestros genes en las enfermedades es muy importante para nosotros, por lo que también le solicitamos que nos permita usar sus muestras sanguíneas en algún otro proyecto, exclusivamente relacionado a este tema de investigación, ya que se requiere determinar diversos genes para conocer a la población mexicana mestiza, saber ¿cuáles son muestras características genéticas? y ¿por qué Usted desarrolla la enfermedad y otros integrantes de su familia no?

Su participación en el estudio consiste en la donación de dos muestras de sangre de 5 ml cada una, a partir de las cuales, de una se analizará los genes que se estudiarán (HLA). La toma de las muestras será obtenida por los médicos tratantes, los efectos adversos por dicha toma de sangre son mínimos y puede incluir, moretones en el sitio de la punción (hematoma) o dolor local, los cuales, en caso de presentarse, usualmente desaparecen en 1 o 2 días; sin embargo, en caso de ser necesario, Usted recibirá atención médica pertinente.

Se me ha informado que el análisis y obtención de resultados toma aproximadamente 6 meses, por lo que después de ese tiempo yo podré obtener los resultados, contactando al investigador principal. En caso de sobrar muestra se procederá a la eliminación del mismo, conforme a lo estipulado por la normatividad vigente (NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCION AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS - CLASIFICACION Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO)



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**

**C.M.N. “20 de Noviembre”**



**BENEFICIOS:**

A pesar de que no existe un beneficio directo para los participantes, y no tendrá ninguna influencia en el tratamiento o diagnóstico al cual actualmente es sometido, el presente estudio tendrá la ventaja de dar a conocer cuáles son mis genes que se han estudiado, además podría permitir desarrollar conocimientos para mejorar la atención de todos aquellos pacientes mexicanos que presenten un rechazo al trasplante de riñón.

Gracias a su participación altruista, se podría beneficiar a otros muchos pacientes al encontrar nuevas formas de atender y mejorar la calidad de vida en esta enfermedad.

**RIESGOS:**

Su participación no conlleva riesgo alguno para su salud, la toma de muestra sanguínea, se llevará a cabo por gente experta y en caso de presentar algún moretón por dichos procedimientos, se me brindará la atención médica pertinente e inmediata.

**PARTICIPACIÓN:**

Su participación es **VOLUNTARIA**, usted puede decidir libremente participar o no, esto no afectará la atención en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE. Además, se me ha informado que soy libre de solicitar mi retiro del estudio en cualquier etapa del mismo.

**MANEJO DE LA INFORMACIÓN:**

En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la Ley Federal de Protección de Datos: licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger sus datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado. Toda la información proporcionada se utilizará con fines de investigación y conforme al consentimiento informado, entendiendo que todos los resultados durante el desarrollo de la misma. Así mismo, se me ha informado que mi nombre no será revelado ni utilizado de forma pública en ninguna etapa del desarrollo de este protocolo de investigación.

**PARTICIPANTE:**

Confirmando haber recibido información suficiente y clara sobre el estudio propuesto, doy mi autorización para ser incluido en este proyecto de investigación, reservándome el derecho de abandonarlo en cualquier momento si así lo decido.

---

Firma y nombre del paciente

Dirección y teléfono del participante:

---

---



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**



**C.M.N. “20 de Noviembre”**

**TESTIGOS:**

(1) Nombre y firma \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

(2) Nombre y firma \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

INVESTIGADOR O MÉDICO QUE INFORMA: \_\_\_\_\_

**SERVICIO:** \_\_\_\_\_

Le he explicado al/a la Sr(a). \_\_\_\_\_, la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He dado respuesta a todas sus dudas y le he preguntado si ha comprendido la información proporcionada con la finalidad de que pueda decidir libremente participar o no en este estudio. Acepto que he leído, conozco y me apegó a la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos, que pondré el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación, por encima de cualquier otro objetivo.

INVESTIGADOR RESPONSABLE.

\_\_\_\_\_  
**Dra. Mónica Escamilla Tilch**  
**Adscrita a Coordinación de Investigación**  
Teléfono de contacto: 52005003 ext. 50188

Para cualquier duda o aclaración favor de contactar a la Dra. Zoe G. Sondón García, Presidente del Comité de Ética e Investigación, teléfono de contacto 52005003 ext. 14296 y 14243.

### Anexo 3. Aviso de privacidad.



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**



**C.M.N. “20 de Noviembre”**

México CDMX, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_.

**Título del proyecto de investigación: “IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**

**Número de registro:** \_\_\_\_\_

El presente Aviso de Privacidad tiene como objeto informarles sobre el tratamiento que se le dará a sus datos personales cuando los mismos son recabados, utilizados y almacenados.

**Investigador responsable de recabar sus datos personales, de su uso y protección:**

Nombre: Dra. Mónica Escamilla Tilch

Domicilio: Av. Félix Cuevas 540, Col. Del Valle, Delegación Benito Juárez, Ciudad de México, C.P. 03100      Teléfono: 52005003 ext. 50188      Correo electrónico: monica.escamilla@issste.gob.mx

Su información personal será utilizada con la finalidad del uso de la información del cuestionario realizado para la determinación de la ancestría (si son mestizos mexicanos) y herencia familiar de los genes a estudiar (*HLA*), para lo cual requerimos obtener los siguientes datos personales: lugar de nacimiento (de sus padres, de sus abuelos y el de usted), el idioma o lengua que habla, el tipo de domicilio y si alguien más de su familia participa en el estudio; estos datos son considerados como sensibles de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos que usted proporcione serán tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad. En el caso de este proyecto, las medidas que se tomarán para ello serán: utilizar códigos y número de expediente; los cuales se almacenarán en una base de datos y/o archivo electrónico bajo custodia del investigador principal.

Los datos que usted nos proporcione no serán compartidos con otras instancias o instituciones y únicamente serán usados por el equipo de investigadores para este proyecto.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al manejo de los mismos o anular el consentimiento que nos haya otorgado para tal fin, presentando una carta escrita dirigida a la investigadora responsable *Dra. Mónica Escamilla Tilch*, o con la Presidente del Comité de Ética en Investigación del CMN “20 de Noviembre”, Dra. Zoé Gloria Sondón García. Tel. 52005003 Ext. 14296 y 14243.

**DECLARACION DE CONFORMIDAD:** Manifiesto estar de acuerdo con el tratamiento que se dará a mis datos personales.

**Nombre y firma del sujeto de investigación o paciente:**

\_\_\_\_\_

1/1

## Anexo 4. Hoja de recolección de datos y cuestionario de ancestría.



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”**



México CDMX, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_.

### CUESTIONARIO DE ANCESTRÍA

**“IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS DEL ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) EN FAMILIAS DE  
PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL Y SU ETNICIDAD”**

Paciente \_\_\_\_\_ Relación filial \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Lugar de residencia del paciente \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento del paciente \_\_\_\_\_

Idiomas: Español ( ) Lengua indígena ( ) \_\_\_\_\_ Otro ( ) \_\_\_\_\_

Filiación étnica (autoidentificación) \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_

Habitantes por dormitorio: \_\_\_\_\_

Vivienda en área: Rural ( ) Urbana ( )

Tratamiento: \_\_\_\_\_



**“Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los  
Trabajadores del Estado”**



**CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”**

Duración del tratamiento: \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento de los padres del paciente:

Padre: \_\_\_\_\_ Madre: \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento de los abuelos del paciente:

Abuela paterna: \_\_\_\_\_ Abuelo paterno: \_\_\_\_\_

Abuela materna: \_\_\_\_\_ Abuelo materna: \_\_\_\_\_

Si participa familiar(es) en el estudio, señalar nombre y parentesco

\_\_\_\_\_