



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

PETROLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCION DE SERVICIOS DE SALUD
GERENCIA DE SERVICIOS MEDICOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

CORRELACION DE INMUNOFENOTIPOS DE SUBPOBLACIONES ESPECIALES
DE CELULAS B REGULADORAS Y CELULAS NK EN SANGRE PERIFERICA
MEDIDOS POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD
RENAL CRONICA EN ESTADIO 5 DE LA NKF Y PACIENTES DE TRASPLANTE
RENAL SIN RECHAZO

TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA:
CARLOS ANGEL HERNANDEZ BELMONT

DIRECTOR DE TESIS:
DR. LOPEZ Y LOPEZ LUIS RAUL
NEFROLOGO Y MEDICO INTERNISTA DEL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA
ESPECIALIDAD

COMITÉ TUTOR:
DR. CARMONA ESCAMILLA MARCO ANTONIO
JEFE DEL SERVICIO DE NEFROLOGIA DEL HOSPITAL CENTRAL SUR DE
ALTA ESPECIALIDAD
DR MARTIN CORONADO MALAGON
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL CENTRAL SUR
DE ALTA ESPECIALIDAD

CIUDAD DE MEXICO A 16 DE JUNIO DEL 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

RESUMEN

Introducción

La Enfermedad Renal crónica (ERC) es un problema de salud de alto costo económico asociado a una disminución en la calidad de vida y un aumento en el riesgo de mortalidad. El trasplante renal es de elección, sin embargo, el rechazo es el principal reto para vencer. Se han identificado estímulos inmunológicos como las células Natural Killer (NK), vías de Co-Estimulación (ICOS, CD28, CD152) y una subpoblación de Linfocitos conocidos como reguladores (Linf T Reg) detectados a través de FoxP3, CD8 y CTLA que se asocian a disminuir o aumentar el riesgo de rechazo.

Metodología

Se realizó un estudio, transversal, inferencial, descriptivo, clasificando variables cualitativas y cuantitativas, con uso de los programas Stata V.17.0 y GraphPadPrism., usando una $P < 0.05$ como significativo. Se usó T-Student y U-Man-Withney según corresponda. Posteriormente se utilizó un diagrama de dispersión con una prueba R de Spearman o de Pearson para identificar la magnitud de asociación de las subpoblaciones especiales de Células B-Reguladoras y células NK

Resultados

Se realizó citometría de flujo a todos los pacientes para identificar células B reguladoras (CD38, CD24, CD19) y células NK (CD46, CD57, CD16) a las cuales se les realizó una correlación de Spearman en la población de células B reguladoras (CD 19, CD 38 CD 56) entre los pacientes con enfermedad renal crónica y trasplante renal, encontrando una $R = 0.03$ con una $P = 0.95$, además se realizó una correlación de células NK (CD56, CD 57, CD 16) entre pacientes con Enfermedad Renal Crónica y Pacientes con trasplante renal encontrando una $R=0.64$ con una $P = 0.13$

Discusión

Los pacientes Postrasplantados presentaron mayores células B reguladoras en comparación con los pacientes en Enfermedad renal crónica terminal ($P=0.03$), De igual manera en los pacientes postrasplantados se encontró una diferencia

estadísticamente significativa de células NK en pacientes trasplantados sin datos de rechazo en comparación con aquellos no trasplantados con una P 0.003

Conclusión

Las células B reguladoras y NK no tienen una correlación lineal, sin embargo, el Numero neto si es diferente en cada grupo pre y post trasplante sin embargo los hallazgos deberán ser corroborados en estudios subsecuentes

INDICE

RESUMEN	2
INDICE.....	4
TITULO.....	6
DEFINICION DEL PROBLEMA	7
MARCO TEORICO.....	9
INSUFICIENCIA RENAL EN MÉXICO Y EN EL MUNDO.....	9
TRANSPLANTE RENAL EN MEXICO Y EN EL MUNDO	11
CÉLULA T REGULADORA	12
Modelo de activación de células T	12
Vías de Coestimulación o Moléculas accesorias	17
CD28+	17
Muerte Programada 1 (PD-1)	18
ICOS	19
INMUNOLOGÍA DEL TRASPLANTE	21
Directa e indirecta.....	21
JUSTIFICACION	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	26
HIPOTESIS.....	26
OBJETIVO GENERAL.....	27
OBJETIVO ESPECIFICO	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
TIPO DE ESTUDIO	27
DISEÑO	28
CRITERIOS DE INCLUSIÓN, NO INCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN	29
RECURSOS Y LOGISTICA (CALENDARIO Y COSTOS).....	34
COSIDERACIONES ETICAS.....	35
RESULTADOS	36
DISCUSION.....	39
LIMITACIONES DEL ESTUDIO	41

CONCLUSIONES.....	41
REFERENCIAS.....	43
ANEXOS.....	45

TITULO

CORRELACION DE INMUNOFENOTIPOS DE SUBPOBLACIONES ESPECIALES DE CELULAS B REGULADORAS Y CELULAS NK EN SANGRE PERIFERICA MEDIDOS POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO 5 DE LA NKG Y PACIENTES DE TRASPLANTE RENAL SIN RECHAZO

DEFINICION DEL PROBLEMA

El rechazo renal crónico continúa siendo una causa muy frecuente de pérdida del injerto en América latina. La principal meta a largo plazo desde el inicio de la era de los trasplantes es lograr una tolerancia inmunológica del injerto, sin embargo, a pesar de los avances en tecnología e investigación, el trasplante continúa requiriendo terapia inmunosupresora para evitar un rechazo crónico de tipo Humoral, con una incidencia global que va desde el 5% hasta un 10%, llegando a ser tan alta como 35% en el grupo de alto riesgo inmunológico.

Este rechazo es gatillado por la presencia de la cascada inmunológica como lo es la presentación de aloantígenos del sistema inmunológico de los pacientes receptores de aloinjertos, con el consiguiente daño inmunomediado, sin embargo el diagnóstico del rechazo es únicamente por sospecha clínica caracterizada por una injuria renal aguda sin un claro factor identificable o la ausencia de mejoría tras la resolución de factores que pudieran disminuir la función renal, y finalmente una confirmación histológica

En estudios previos se ha demostrado que la mayoría de los pacientes que se encuentra clínicamente estables y con niveles de creatinina dentro de rangos normales, la tolerancia inmunológica ya ha sido alterada, tanto con activación de las vías de complemento, Natural Killer y células T reguladoras, las cuales finalmente llegaran a un rechazo bioquímico y finalmente clínico.

Según reportes mexicanos, el índice de trasplantes se vio afectado por la pandemia de COVID-19 provocando una disminución en el número de trasplantes de todas las instituciones públicas, no siendo la excepción la institución de petróleos mexicanos donde se documentó solo 2 Trasplantes durante todo un año, y si a esto se le asocia el costo anual promedio de un paciente post-trasplante que ronda aproximadamente entre los 799,374 pesos y el alto índice de rechazo, nos pone en el contexto de un problema de salud pública que provoca gastos inmensurables para el sector salud, con alto riesgo de fracaso de la terapia si no se obtienen formas tempranas de evitar el desenlace del rechazo crónico.

Por esta razón, se plantea la posibilidad de realizar Citometría de flujo para determinar el estado de Homeostasis inmunológica que permitiría el

conocimiento del estado inmunológico de un paciente postrasplantados y de esta forma, tener conocimiento de si los pacientes están comenzando a generar un rechazo crónico aun cuando no se ha presentado clínicamente ni en niveles de laboratorio.

Esta Tesis esta fundamentada en el contexto anterior, con el objetivo de determinar las líneas celulares Natural Killer y células B reguladoras en pacientes postrasplantados y su correlación en el contexto de un rechazo crónico que aun no es detectable por los métodos convencionales y poder tener un impacto en la prevención de la perdida del injerto y de esta forma prolongar la supervivencia de los pacientes

MARCO TEORICO

INSUFICIENCIA RENAL EN MÉXICO Y EN EL MUNDO.

Desde la publicación de Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) en 2002, la enfermedad renal crónica ha sido reconocida como un problema de la salud pública que incrementa el riesgo de una enfermedad renal crónica terminal, enfermedad cardiovascular, así como otras complicaciones. Entre los pacientes con presencia de diabetes o Hipertensión arterial, los resultados clínicos (Incluyendo mortalidad y eventos cardiovasculares) se encuentran fuertemente afectados por la enfermedad renal. La diabetes y la hipertensión arterial son las principales causas de la enfermedad renal crónica en todos los países desarrollados. Las glomerulonefritis y otras causas desconocidas son más comunes en países de Asia y Sudáfrica. Además, las enfermedades infecciosas, como VIH, la esquistosomiasis y la leishmaniasis, que también contribuyen a la ERC, son frecuentes en los países de bajos a medianos ingresos. Debido a que usualmente la enfermedad renal crónica es asintomática hasta estadios muy avanzados, ha condicionado que los datos de la prevalencia mundial sean escasos(1)

Información de Estados Unidos estiman una prevalencia entre 13.1% que ha incrementado a través del tiempo. Además, se ha considerado que la enfermedad renal crónica se encuentra asociada con un incremento de riesgo cardiovascular, su severidad muerte; tanto es así que en datos obtenidos en el año 2013 demostró que una reducción en la filtración glomerular fue asociada al 4% de las muertes alrededor del mundo y de estas, más de la mitad fue debido a causas cardiovasculares (2)

En 1999-2004, usando el método MDRD, el 81% de los participantes con una función glomerular menor de 60ml tenía hipertensión, y solo el 15% se encontraban en un régimen adecuado. Con el método CKD-EPI entre 1999 a 2004, 85% eran hipertensos y 15% se encontraban con adecuado control, comparado con el 85% y 24% respectivamente que se presentó en 1999 a 2004. Con el método MDRD y CKD-EPI entre 1999 a 2004, el 81% de los pacientes con filtración

glomerular menor a 60 tenían Hipercolesterolemia, pero solo 18-21% se encontraban con adecuado control. Entre 2005 a 2008 aproximadamente, el 15% de los participantes con Enfermedad renal crónica tenían un control adecuado de Colesterol total.

Esto ha mostrado que cuando se compara las 3 enfermedades crónicas interrelacionadas (Diabetes tipo II, Insuficiencia cardiaca congestiva y Enfermedad renal crónica) y se compara su prevalencia a través de los años, es posible notar que la prevalencia de la diabetes ha incrementado claramente, la prevalencia de la falla cardiaca se ha mantenido y la prevalencia de la Insuficiencia renal ha ido en disminución de 15.8% a 15.1% cuando fue calculado con la Formula MDRD (Modification of diet in renal Disease), y de 14.7% a 14.5% cuando se ha calculado con la CKD-EPI (3).

Respecto a lo anterior, México no es la excepción ya que la Enfermedad renal crónica es el resultado causado por diversas enfermedades cronicodegenerativas entre las que destacan: Diabetes tipo II y la hipertensión arterial, no obstante, en nuestro país si se ha visto un incremento importante en la prevalencia e incidencia de la Enfermedad renal crónica. México carece de un registro de sus pacientes con Enfermedad renal crónica por lo que no es posible conocer el número exacto de pacientes (En cualquiera de sus estadios) que se encuentran cursando con una enfermedad renal, sin embargo, se estima una incidencia y una prevalencia de 377 y 1,142 casos por millón de habitantes respectivamente. (4)

Entre las principales causas de Enfermedad renal en nuestro país se pueden agrupar las enfermedades vasculares, enfermedades glomerulares, del túbulo intersticial y uropatía, sin embargo, la causa más frecuente en la república mexicana hasta en más de 50% de los casos es la Diabetes tipo II, seguida en frecuencia por la hipertensión arterial crónica y las glomerulonefritis; Además, datos recientes han mostrado que los pacientes con Enfermedad renal crónica tienen de 5 a 10 veces más probabilidades de morir antes de alcanzar la etapa terminal de esta enfermedad, estimándose que para el 2025, habrá cerca de 212 mil casos y se registrarán casi 160 mil muertes relacionadas con dicha enfermedad lo que hace imperante contar con terapias de remplazo renal (diálisis peritoneal, hemodiálisis y trasplante renal). .

El problema es tan alarmante a nivel económico para nuestro país que de acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (La cual atiende aproximadamente a 73% de toda la población), la enfermedad renal crónica fue parte del 15% del gasto total (Lo que corresponde a casi 13,250 millones de pesos), gasto que fue implementado en solo el 0.8% de los derechohabientes (población con Enfermedad Renal crónica terminal). Además, si en México fuera posible el acceso a diálisis de manera universal, el gasto sería de aproximadamente 33,000 millones de pesos anuales (40% del presupuesto nacional destinado al sector salud) (4)

De acuerdo con datos del INEGI, la muerte por insuficiencia renal comienza a aparecer entre las diez principales causas, en el grupo de personas que fallecen a partir de los 45 años. En 2020, se registraron 15,455 decesos por insuficiencia renal. Del total de las muertes por enfermedades de insuficiencia renal, las muertes por insuficiencia renal crónica representan 72.4% con 11,188 sucesos.

De acuerdo con cifras reportadas del IMSS a través de 212 hospitales generales y regionales, así como de 13 unidades médicas de alta especialidad distribuidos por el territorio mexicano, la distribución de los pacientes por modalidad fue del 59% para pacientes con diálisis peritoneal (32% en diálisis peritoneal continua o DPCA y 27% para pacientes con diálisis peritoneal automatizada o DPA) y de 41% para pacientes en hemodiálisis (17% en intramuros y 24% en extramuros)

TRANSPLANTE RENAL EN MEXICO Y EN EL MUNDO

Ya desde 1999 se conoce la mejoría que presentan los pacientes que han sido sometidos a trasplante renal en comparación con aquellos que se mantienen en diálisis peritoneal o hemodiálisis donde se encontró que la mortalidad anual de todos los pacientes en diálisis fue 2.6 veces superior en comparación a aquellos que se encontraban en lista de espera, así como la tasa de mortalidad anual de los pacientes que se encontraban en lista de espera fue de 1.7 veces superior a la de los receptores de trasplantes (5), lo que ha condicionado la mayor solicitud de trasplantes y el menor número de órganos disponibles para dicho procedimiento. En el 2009 se propuso originalmente por Rao et al índice de riesgo de donantes de Riñón (KDRI Por sus siglas en inglés) el cual es un modelo de predicción que asigna una puntuación de riesgo a los riñones de donantes fallecidos, según las características del donante y del trasplante recopiladas por el "*Organ*

Procurement and Transplantation Network” (OPTN) que permite a los pacientes decidir de acuerdo con el riesgo si rechaza o no el órgano del paciente fallecido. Se comparó el riesgo de mortalidad en aquellos pacientes que decidían aceptar un Riñón de donador Fallecido con KDRI alto en comparación con aquellos pacientes que decidían una maniobra más conservadora y mantenerse en la lista de trasplante encontrándose que en los primeros 30 días posteriores al trasplante de un riñón con DKPI alto, el riesgo de mortalidad fue 2.28 veces mayor que en los pacientes que recibieron un enfoque conservador de esperar un riñón con KDPI <70, sin embargo en todos los pacientes más allá de los 180 días, el riesgo de mortalidad fue sustancialmente menor en aquellos con KDPI alto y la diferencia fue estadísticamente significativa con un HR de 0.52 con $p = <0.001$ demostrándose que a pesar del KDPI alto de un donador cadavérico, el beneficio a largo plazo en cuestión de mortalidad siempre sería mejor en comparación de terapia expectante (6)

El trasplante se considera la mejor opción de tratamiento para la enfermedad renal crónica, no obstante, en México no se considera una solución viable debido a que hay muy poca tasa de donaciones, aunado a los altos costos iniciales y el nivel de deterioro orgánico que presentan los pacientes por las enfermedades primarias. El ejemplo más claro es el año 2017, donde se reportaron las cifras del Centro Nacional de Trasplantes quienes tenían un total de 13,634 pacientes receptores en espera de un riñón y, durante ese mismo año se realizaron únicamente 3,150 trasplantes renales (4).

En un estudio retrospectivo realizado en el 2020, el costo de atención anual promedio per cápita para el año uno post-trasplante fue de 799,374 pesos, repartido entre las complicaciones al igual que la diálisis (Representando el 48.9% de la atención), seguido por el costo de cirugía del receptor y del donador con costo de 163,788 y 81,760 pesos respectivamente, representando el 20.5% y el 10.2% del costo total de la atención

CÉLULA T REGULADORA

Modelo de activación de células T

Desde el año de 1970 se llegó a proponer que las células T supresoras serían

capaces de inhibir otras células T, con lo que podría mediar la tolerancia inmunológica, así como discriminar entre la tolerancia propia y no propia. En la década de a1990, se propuso la existencia de una subpoblación de células T supresoras que expresaban CD4 a las cuales se les Denomino CD4+ y a las cuales se les denomino células T reguladoras. Hoy en día se consideran 2 linajes de células CD4+ llamadas T-Reguladoras y T-Colaboradoras (Treg y Th Respectivamente). Las células Th se encargan de controlar la inmunidad adaptativa activando otras células como Linfocitos T citotóxicos CD8+, Linfocitos B y macrófagos. En contraste, las Treg se encargan de suprimir actividades nocivas de las células Th. En 1995, se descubrió un subconjunto de células T CD4+ derivadas del timo que expresan altos niveles de IL-2Ralfa (CD25) las cuales prevenían de autoinmunidad a los ratones timectomizados. (7)

Hoy en día se han propuesto al menos 9 funciones no exclusivas para las células T reguladoras entre las que se encuentran: 1) Prevenir enfermedades autoinmunes fomentando la autotolerancia inmunológica, 2) Supresión de la atopia 3) Inducir la tolerancia a antígenos dietéticos, 4) Inducir tolerancia Materno-Fetal, 5) Regular la clase efectora de respuesta inmune 6) Suprimir la activación de células T desencadenada por estímulos débiles, 7) Control de la magnitud de respuesta inmune por parte de Células Th, 8) Proteger a las bacterias comensales contra el sistema inmune 9) Prevenir que las células T que se han estimulado por su ligando verdadero agonista de alta afinidad destruyan células que solo expresan ligandos del receptor de célula T (TCR) de baja afinidad, como la molécula del complejo principal de Histocompatibilidad (CMH) . (8)

En 1980 se perdió el seguimiento de las Células T supresoras debido a la falta de marcadores moleculares que permitieran su adecuada caracterización. En Ratones es posible identificar estas células con la sola expresión de CD25 y el regulador transcripcional Forkhead box P3 (FOXP3), lo cual no es posible en humanos debido a que las células incrementan estos marcadores tras ser activados (7)

Hoy en día tenemos ya marcadores específicos que nos permiten una mejor caracterización de estas células como son: CD25+, Antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4: regulador negativo de activación de células T que aumenta

en células T CD4+ y CD8 + 2 a 3 días después de la activación), gen relacionado con la familia del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR: inducción tras la activación), gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3), CD127 (Cadena Alfa del receptor de IL-7, él se regula a la baja tras la activación de Células T CD4+) y marcador FoxP3 (Expresado tras la activación de células T CD4+), sin embargo estos no son específicos para las células T reguladoras y se consideran marcadores generales de activación de células. En estudios Preclínicos, las células Treg CD4 +, CD25+, CD127- son eficaces para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped y así retrasar el rechazo del injerto.

Las células TCD4+ poseen un TCR (Receptor de Células T) reorganizado somáticamente y las células T-reguladoras no son la excepción. Este permite el reconocimiento específico de péptidos antigénicos en el contexto de moléculas MHC de clase II. En una manera normal, las células T-Helper convencionales requieren el reconocimiento de antígenos por parte del TCR y por lo tanto las células T-Reguladoras deberían seguir el mismo patrón sin embargo estudios in-vitro han demostrado que las células T-Reguladoras deben primero ser activadas a través del receptor TCR para posteriormente volverse supresoras. Esto es relevante ya que implicaría que las células T reguladoras se activa de manera específica para el antígeno y que su función reguladora también es específica, En el timo, las células CD4+ inmaduras pueden recibir una señal TCR de alta intensidad, tras lo cual la mayoría de las células CD4+ Inmaduras experimentan una selección negativa, mientras que una intensidad de TCR intermedia pueden escapar de la eliminación y pueden diferenciarse en Treg. Otros factores (p. ej. NFAT/AP, ICOS/ICOSL y linfopoyetina estromal tímica) se encuentran involucrados en la diferenciación de Treg humana. Además, las células T FOXP3- CD4+` vírgenes se pueden llegar a diferenciar en vasos periféricos para transformarse en células FOXP3+ conocidas como Treg Inducidas (iTregs)

Cabe mencionar que las Células T CD4+ tienen la capacidad de discriminar lo propio de lo ajeno ya que, durante el desarrollo tímico, los TCR de las células T se generan estocásticamente (Al azar) por el reordenamiento de genes somáticos. De esta forma se puede prevenir la autoinmunidad al eliminar del repertorio a las células T con TCR autorreactivas. Teniendo en cuenta esto, se considera que las

células Treg son autorreactivas para mediar la autotolerancia.

El factor de transcripción Foxp3 es considerado hoy en día como el marcador más fiable para las células T reguladoras encontrándose principalmente su expresión en células T CD4+. La función propuesta para este marcador es el amplificar y corregir las características moleculares preestablecidas de las células Treg, sin embargo, su función exacta es desconocida.

La forma en que las células Treg median la Respuesta inmunológica de las células Th está basada en lo antes explicado de la Regulación a un mismo antígeno. Se ha propuesto que el mecanismo de supresión se base en una interacción entre la Célula Treg, Célula Th y la célula presentadora de antígeno. (8).

En el año 2009 se logró realizar la clasificación de los linfocitos Treg: 1) Nativos/Reposo (CD45RA+ FoxP3Low), consideradas las “Treg reales” originarias del Timo, 2) Efectores (CD45RA - FoxP3High) considerados la población activa in vivo, y 3) Productores de Citocinas (CD45RA – FoxP3Low), los cuales son productores de citoquinas (p. ej. IL-17 e IFN-Gamma) y que aún son capaces de suprimirlas. En la Figura 1 Podemos resumir los mecanismos supresores de las Células Treg:

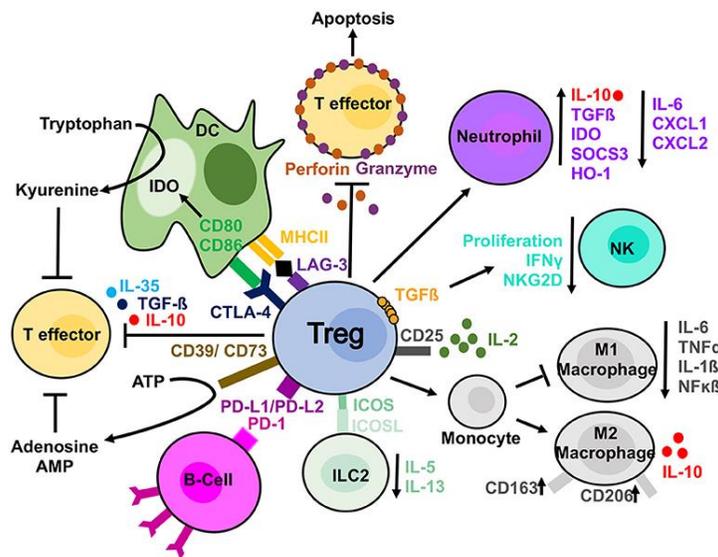


Fig1. Mecanismos supresores de Treg. Todas las Células Treg pueden efectuar sus funciones supresoras en diferentes células por mecanismos denominados directos o indirectos: 1) Pueden producir citocinas antiinflamatorias (IL-10, IL-35, y TGFβ) las cuales afectan a las Células T Efectoras 2) Pueden secuestrar, por alta expresión de CD25 a la Interleucina-2, lo que condiciona una reducción en la proliferación de células Efectoras, reduciendo además la proliferación de NK. 3) Las NK pueden

verse Afectadas por las Treg por el TGF-Beta unido a membrana, 4) Tienen un efecto directo sobre Células B por la interacción de PDL1/PD-1 y las DC a través del CTLA-4. 5) El CTLA-4 se encarga de bloquear la coestimulación, lo que reduce la expresión de CD80/CD86. 6) La expresión de CD39 controlan la conversión de ATP a AMP y adenosina reduciendo la proliferación de Células-T efectoras, 7) Las células Treg sesgan a monocitos evitando su diferenciación en Macrófagos M1 proinflamatorios y estimulando la conversión en M2 Antinflamatorios.

Las células T reguladoras tienen el potencial de suprimir a las células B autorreactivas de manera específica para un antígeno (Como se señaló previamente), la cual requiere la expresión de PD1 en células B Autorreactivas. Además, en pacientes en condiciones inflamatorias, los monocitos se encargan de migrar a un tejido, donde se pueden diferenciar en células dendríticas o macrófagos, por lo que las células Treg actúan en los monocitos inhibiendo su función de diferenciación, secreción y presentación de antígenos, finalmente diferenciándose en Macrófagos M2.

Las Células Treg también pueden afectar a los neutrófilos limitando que se acumulen a través de disminuir la expresión de CXCL1 y CXCL2 los cuales son quimioatrayentes, evitando así la infiltración anormal de la piel.

Respecto a las Células linfoides innatas (dividida en 3 grupos según su expresión de factores de transcripción), como las células NK que liberan citoquinas que pueden reclutar otras células de la inmunidad a través de su producción de IFN-gamma y TNF-Alfa, también se han visto involucradas funciones de los linfocitos Treg como es el caso del embazo donde las NK son suprimidas a través de las Treg para crear un ambiente de tolerancia. Después de la activación de las células Treg, suprimen las NK a través de TGF-beta unido a la membrana, la cual da como resultado la inhibición de las funciones y proliferación de NK

Hablando de los pacientes con Trasplante renal, en las últimas décadas, varios investigadores se han centrado en comprender la biología de las Treg y su función en el trasplante renal ya que se ha visto que estas células pueden retrasar o bien prevenir el rechazo del injerto, no obstante aunque se han hecho varios ensayos clínicos donde se ha propuesto el trasplante de Células Treg a pacientes a quienes

se sometieron a trasplante de órgano sólido sin resultados concluyentes, ya sea por el número de pacientes o por la capacidad de cultivo de las Células Treg.

Vías de Coestimulación o Moléculas accesorias

CD28+

En 1986, se realizó el descubrimiento de un anticuerpo monoclonal contra CD28 (En aquel tiempo llamado Tp44), tras lo cual se comenzaron a investigar más sus funciones encontrando que impulsa eventos bioquímicos intracelulares críticos, entre ellos la fosforilación única y señalización transcripcional, metabolismo y producción de citoquinas clave, quimiocinas y señales de supervivencia esenciales para la diferenciación y expansión de las células T. El tratamiento de ratones con un antagonista soluble de CD28 indujo tolerancia específica del antígeno evitando así el rechazo de injertos y la progresión de enfermedades autoinmunes. Esto ha llevado a la conclusión de que el CD28+ no solo es útil como amplificador de TCR, sino que permite controlar eventos bioquímicos intracelulares (Desde modificación de proteínas postraduccionales hasta cambios epigenéticos). Se ha encontrado un conjunto cada vez más complejo de interacciones donde CD28+ se une a varios ligandos (CD80 y CD86).

CD28 se considera el miembro fundador de una subfamilia de moléculas de coestimulación con un dominio variable extracelular. Consta de 4 Exones que codifican una proteína de 20 aminoácidos que se expresa en la superficie celular como un Homodímero. Otros miembros son: ICOS, PD1, TIGIT, CTLA4, PD1H y BTLA.

CD28 se expresa en aproximadamente 80% de células T CD4 humanas y en 50% de CD8 y sus concentraciones disminuyen con la edad. Sus ligandos (CD80 y CD86) presentan patrones de expresión diferentes. CD80 se encuentra de manera dimerica en la superficie celular y CD86 es monomérico y se expresa en células presentadoras de antígeno considerándose más importante en el inicio de las respuestas inmunes.

CD28 y CTLA son homólogos y compiten ambos por CD80 y CD86, solo que CTLA tiene una mejor afinidad que CD28 por lo que permite que CTLA compita contra CD28 y de esta forma suprime las respuestas de células T efectoras.

Estudios experimentales han demostrado que CD28 y CTLA tienen efectos opuestos en la estimulación de células T (CD28 = activación y CTLA = Inhibición). Curiosamente, la expresión de CD80 y CD86 son necesarias para prevenir las autoinmunidades manteniendo al alza las células T reguladoras.

Dado que CD28 favorece la unión de ligandos monoméricos y CTLA la de ligandos dimericos, la proporción de CD80 y CD86 en formas monoméricas vs multimericas podría desempeñar un papel en la modulación de células T. En ratones, la ligadura de CD28 es necesaria tanto para el desarrollo tímico como para la homeostasis periférica de las células T reguladoras.

Además, el CD28 apoya en la Homeostasis y la función de las Células T en una variedad de formas (Apoyan expresión de miR17-92 para producción de IL-10) como para apoyar la producción de células Treg inducidas.

CTLA contribuye a la función de las células T reguladoras al disminuir la expresión de CD86 y CD80 de las células dendríticas

Muerte Programada 1 (PD-1)

Hasta este punto se ha hablado de varias vías de la inmunidad enfocadas a realizar ya sea actividad estimuladora o inhibitoria y un punto a tocar muy importante es el Receptor de muerte programada (PD1 por sus siglas en ingles) el cual tiene un rol muy importante en la inhibición de activación de las células T a través de una interacción con los ligandos PD-L1 y PD-L2, lo que resulta en una disminución de la activación proliferación, Activación, Diferenciación y producción de citocinas por parte de las células T. El PD1 se encuentra regulado de manera ascendente a través de las células T después de haber sido activada por un antígeno del receptor de células T y su expresión se elimina una vez que se elimina el antígeno. Una estimulación constante de las células T por un antígeno conduce a una expresión alta y continua de PD1. Se ha demostrado que después de la estimulación policlonal, las células T CD4+, CD57+ PD1 produjeron altos niveles de citoquinas efectores como IFN-Gamma o TNF. Cuando se activan, las células T regulan al alza diferentes receptores coestimuladores, como PD-1, CD223 y CD244, donde el Ligando principal de CD223 es el CMH de clase II, que se une con mayor afinidad que el CD4, regulando negativamente la proliferación celular, la activación y la homeostasis en las células T de manera similar al antígeno 4 de linfocitos T

citotóxicos (CTLA-4). Se puede decir que PD1 y sus ligandos Regulan las respuestas inmunitarias negativamente al reducir la proliferación de células T y la producción de IFN-Gamma.(9)

El receptor PD1 se encuentra expresado en los timocitos y en todos los linfocitos T CD4+ y CD8+, incluidas las células T-Reguladoras y las células T de memoria. Este receptor también puede encontrarse expresado por las células B, NK, algunas células mieloides y células cancerosas.

Teniendo en cuenta su presencia en varias células involucradas en el rechazo del injerto, la vía PD1/PD-L1 se ha convertido en un objetivo atractivo para inducir la tolerancia del rechazo al injerto. Apuntando a esta teoría se han hecho estudios respecto a si la Sobreexpresión de PD1 en las células T podría promover la supervivencia del injerto a largo plazo en murinos con trasplante cardiaco donde se encontró que una sobreexpresión de las células T de PD-1 conducía a una menor proliferación y menor producción de citocinas en comparación en aquellos con células T convencionales, además de encontrar niveles de ICOS significativamente más altos, además de encontrarse en la Histopatología una inflamación mínima , así como un porcentaje bajo de fibrosis (<3%)(10)

En lo que respecta a los trasplantes renales, a pesar de las terapias inmunosupresoras, la nefropatía crónica del injerto y la pérdida del injerto aún son un problema ya que, a pesar de las causas no inmunológicas, los factores inmunológicos tienen implicaciones muy significativas.

ICOS

ICOS es una molécula coestimuladora relacionada con CD28 inducida por activación. Alternativamente, ICOS se ha implicado en el mantenimiento y desarrollo de poblaciones de células reguladora clave evidenciado en estudios en murinos en los que se mostraron células T reguladoras CD4+ FoxP3 + reducidas, lo que indica un papel para ICOS en la homeostasis de Treg.

En el manejo del trasplante renal, es posible el uso de Belatecept como un fármaco útil en el bloqueo de la coestimulación a través de la vía B7-CD28 y el cual se ha asociado a una supervivencia a 5 años del injerto, así como una mejor función del injerto renal, sin embargo también se ha asociado a una mayor tasa de rechazo agudo temprano y es aquí donde se propone el posible bloqueo del coestimulador

inducible (ICOS)-ICOS, el cual es un homólogo de CD28 que no se llega a expresar en células T consideradas vírgenes, pero que se eleva de manera rápida con la activación de las células T. El ICOS se une únicamente al ligando de ICOS, conocido como L-ICOS, B7h y B7RP-1 expresado en células B, Células dendríticas y en células macrófagas y que tras su activación es posible mejorar la activación, diferenciación y proliferación de las funciones efectoras de las células T, lo que sugiere que la interacción ICOS-ICOS-L puede ser importante en la respuesta efectora de células T. La interacción del ICOS-ICOS-L es primordial para producir IL-4 e IL-1, pero no de IL-2.

En estudios experimentales, se han encontrado células T-ICOS+ en los aloinjertos de primates no humanos y roedores, así como en muestras de biopsias renales de pacientes postrasplantados. Las células T CD8+ (Mediadoras del rechazo resistente a CoB) se encuentran infiltradas en los aloinjertos tras 24 horas tras la reperusión y a su vez esto aumenta la expresión de ICOS en 72 horas posteriores. En murinos, la coestimulación con ICOS aumenta la hipersensibilidad de contacto. Dado estos hallazgos, un bloqueo de la interacción ICOS-ICOS-L puede dirigirse específicamente a las células T de memoria.

Tras estos hallazgos se ha estudiado el efecto del bloqueo ICOS junto con otros agentes de bloqueo de la coestimulación que ha demostrado una mejoría en la supervivencia prolongada del injerto en modelos murinos. Por esta razón se realizó en el año 2016 por Denise J Lo. et.al. un ensayo piloto de un bloqueo de ICOS-ICOS-L con ICOS-Ig y bloqueo de la vía de Coestimulación de CD28-B7 a través del medicamento Belatecept en monos Rhesus consanguíneos de entre 3 y 5 años en los cuales se maximizó la disparidad genética en los alelos MHC de clase I y en los cuales se realizaron trasplantes renales. Se analizaron los riñones antes del trasplante y en serie después del trasplante a través de citometría de flujo para caracterizar los fenotipos de células inmunitarias de sangre periférica. Los 3 animales que recibieron ICOS-Ig solos rechazaron de forma aguda sus aloinjertos al día 6. Los monos con Belatecept mejoraron la supervivencia del injerto a 44, 71 y >385 días y el tratamiento combinado dio supervivencia a 35, 44 y 45 días, concluyéndose que la adición de ICOS-Ig no prolongó la supervivencia del injerto renal lo cual puede estar explicado a que el bloqueo de ICOS-ICOS-L

disminuye el desarrollo y la función de las células Treg productoras de IL-10 específicas de antígeno y por lo tanto evitar así la supervivencia del trasplante. (11)

INMUNOLOGÍA DEL TRASPLANTE

Directa e indirecta

Sobrevida del injerto renal

El trasplante como ya se comentó previamente es la mejor terapia actualmente disponible para los pacientes con enfermedad renal crónica terminal, porque mejora la calidad de vida en comparación con otras terapias de sustitución renal y además prolonga la supervivencia del paciente. En promedio las tasas de supervivencia del injerto y del paciente en aproximadamente el 95%: Entre las terapias que se han planteado como mejoras en la obtención de órganos y las técnicas quirúrgicas, se encuentran el desarrollo de regímenes de tratamiento inmunosupresor dirigidos a un rechazo temprano y las terapias profilácticas como son los antibióticos han permitido una tasa de supervivencia después de 1 año mejor en comparación con años previos.

En el año 2020 en estados unidos se realizó un estudio donde se analizó la supervivencia a largo plazo del injerto donde se incluyeron a los receptores de trasplante de riñón desde 1995 hasta 2017 con su último seguimiento en marzo 2020, donde el resultado primario fue el tiempo hasta el fracaso del injerto o la muerte. En este estudio se lograron incluir 331,216 receptores con 63.6% de donador fallecido y 36.4 de donador vivo donde se identificaron 134,942 fracasos del injerto durante un seguimiento de 5 años. Tras este análisis se encontró que, para aquellos receptores de donantes fallecidos, la supervivencia a 1 año aumento de 87.7% a 94.3% (una mejoría del 7,5% desde 1995 a 2017) y su supervivencia del injerto a 5 años incremento del 65.9% al 76.3% (Una mejoría del 15.7% de 1995 al 2013). En aquellos pacientes quienes recibieron un injerto de donador vivo la supervivencia del injerto de donador vivo, la supervivencia del injerto mejoro al año del 93.9% al 97.8% (una mejoría del 4.2% desde 1995 al 2017) y una supervivencia a los 5 años que incremento del 79% al 86.4% (Una mejoría del 9.5% de 1995 al 2013, lo que se traduce en una apreciable prolongación significativa de la supervivencia del injerto mucho más allá del primer año después del trasplante

y más aún, las semividas de supervivencia del injerto observadas entre 2005 y 2009 fueron superiores a 9 años y 14 años respectivamente.(12)

Causas de la pérdida del injerto renal

Hasta 1960, el rechazo era muy común entre los pacientes trasplantados a pesar del uso de inmunosupresión farmacológica con Azatioprina y corticoesteroides y se asociaba a la presencia de fiebre y dolor a la palpación de injerto, lo que ha ayudado a que el riesgo de rechazo dentro del primer año después del trasplante sea hoy en día menor al 15%, sin embargo, esto se ha asociado a rechazos más graves que antes.

El rechazo al trasplante renal se puede clasificar de acuerdo con el tiempo en Hiperagudo (En los primeros minutos), Agudo (De días hasta semanas posteriores a la realización del trasplante), Tardío (Posterior a 3 meses del trasplante) o crónico (Meses o años después del trasplante), de acuerdo con los cambios histopatológicos (Celular – intersticial, Vascular, Anticuerpo-Endotelial), a la gravedad (Mediante el esquema de Banff)

El riesgo inmunológico comienza desde la muerte del donante (En caso de un donador cadavérico) que induce una respuesta inflamatoria y una lesión de isquemia-Reperfusión perioperatoria que condiciona una elevación de antígenos HLA por parte del injerto y provoca liberación de las citocinas, quimiocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión dentro del injerto. Esta sobrexposición de antígenos HLA intensifica la respuesta inmune y aumenta la infiltración celular al injerto. Los tejidos lesionados posteriormente expresan ligandos del sistema de receptores tipo Toll (que normalmente detectan patógenos y moléculas de tejido extraño) que activan las células dendríticas y otras moléculas peligrosas innatas (Como el sistema del complemento productor de C3a y C5a que activan a las células presentadoras de antígenos y a los linfocitos T del injerto).

Los tipos de rechazo del injerto renal se puede clasificar de la siguiente manera:

Rechazo mediado por Anticuerpos

Los anticuerpos que se encuentran relacionados con el rechazo mediado por anticuerpos incluyen en cierto agrado a las moléculas HLA (del cual carecen la

mayoría de los receptores a menos que hayan estado expuestos a aloantígenos), Antígenos de células endoteliales y antígenos del grupo sanguíneo ABO.

En el caso de un rechazo hiperagudo, el riñón al momento del trasplante aparece flácido y moteado, lo que refleja el depósito de anticuerpos contra Antígenos HLA en los glomérulos y la microvasculatura, activación de complemento, Necrosis endotelial, depósito de plaquetas y coagulación local, lo que termina casi inevitablemente en la extracción del injerto. El rechazo Hiperagudo cada vez se ve menos hoy en día por las pruebas que se realizan pre-trasplante que detecta mejor los anticuerpos específicos del donante.

El rechazo agudo se caracteriza por una caída rápida de la función del injerto debido a una inflamación aguda secundaria a una alta producción de anticuerpos fijadores de complementos que tienen como objetivo los antígenos del Complejo mayor de Histocompatibilidad (MHC) localizados en el endotelio de los glomérulos y peritubulares del donante. Estos endotelios dañados liberaran varias moléculas como el Factor de Von willebrand y la P-Selectina, que condicionan agregación plaquetaria, liberación de citocina y quimiocinas (p. ej. IL-1alfa, IL-8 y Ligando 2 de quimiocina) que inducen la quimiotaxis y adhesión leucocitaria a los glomérulos o capilares peritubulares.

Dentro del sistema de complemento, C5b desencadena el ensamblaje del complejo de ataque a membrana que condiciona necrosis endotelial y apoptosis

Rechazo mediado por células T

Es la forma más común de rechazo. Esto ocurre cuando las células presentadoras de antígenos presentan los aloantígenos del donante a los linfocitos T del receptor. Las células dendríticas inmaduras dentro del injerto llevan los antígenos del donante hasta el bazo y los ganglios del receptor donde se activan las células T las cuales se diferencian en varios subgrupos para después regresar al injerto para participar en la destrucción del órgano trasplantado.

Las moléculas del MHC son de clase I (presentan péptidos derivados de proteínas internas, p.ej. proteínas virales) o Clase II (presentan péptidos derivados de proteínas extracelulares, p.ej. proteínas extracelulares). Estos genes codifican glicoproteínas que permiten que las células presentadoras de antígenos muestren fragmentos de antígeno a los receptores de las células T.

Las células presentadoras de antígenos del receptor también pueden absorber fragmentos de membrana de otras células; estos fragmentos contienen moléculas MHC que contienen péptidos “predigeridos” derivados de las glicoproteínas MHC del donante.

Además, la activación de las Células T necesita que existan señales distintas a la generadas por el MHC, denominadas señales coestimuladoras entre las que se encuentran CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2), ambos ligandos para receptores de membrana de células T CD28 y CTLA-4, lo cual estimula la célula T.

Los injertos de Hermanos con HLA idénticos sobreviven mucho más tiempo que los injertos HLA no coincidentes de hermanos.

Rechazo vascular

También conocido como Arteritis o endarteritis, incluyen la infiltración de vasos por monocitos, apoptosis celular endotelial y síntesis de proteínas de matriz y colágenos por miofibroblastos de la íntima. Una característica del rechazo vascular es una afección grave que no responde a tratamiento con glucocorticoides.

JUSTIFICACION

El rechazo renal crónico humoral continúa siendo la principal causa de pérdida del injerto en América latina y en el mundo, la cual esta relacionada con varias células inmunitarias como células T reguladoras, células B reguladoras, células Natural Killer y vías de la Coestimulación, así como los factores de riesgo que perpetua la respuesta inmunitaria del huésped (Tabaquismo, Diabetes, hipertensión arterial, Obesidad, etc.), Es por esta razón que resulta necesaria la identificación temprana de un rechazo del injerto, ya que cuando estas son clínicamente evidentes, el daño suele ser ya irreversible y el paciente evoluciona invariablemente a una nueva enfermedad renal terminal. Por esta razón resulta imperante el enfoque dirigido a una identificación subclínica del rechazo del trasplante para que de esta forma se puede interceder en los momentos mas tempranos y de esta forma prolongar la vida del injerto en el paciente, disminuir

las hospitalizaciones, mejorar la calidad de vida y disminuir su mortalidad y costo para el sector salud

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad renal es reconocida como un problema de salud con alto costo económico, una disminución en la calidad de vida y un aumento en el riesgo de mortalidad siendo una de las 10 primeras causas de muerte en México de acuerdo con datos del INEGI. El tratamiento de elección es el trasplante renal. En México existe muy poca tasa de donaciones y entre los factores que han demostrado una menor supervivencia del injerto está el rechazo agudo. Para preservar la supervivencia y la función del Injerto renal se ha estudiado y aplicado fármacos Inmunomoduladores. Ya desde los años noventa se han identificado varias vías de la respuesta inmunitaria asociadas a trasplante entre las que se encuentran las vías de coestimulación (CD28+, ICOS, PD1, CTLA4, BTLA), Grupo de Linfocitos T reguladoras (CD45RA+ FoxP3High, CD45RA-) y la función de los Linfocitos Natural Killer y por lo tanto las investigaciones se han dedicado a crear una terapia dirigida a estos objetivos inmunológicos, sin embargo los resultados no han sido concluyentes ya que algunos resultados muestran un aumento en la supervivencia del injerto renal y otros no, además de que exponen a los pacientes a los efectos adversos de dichas terapias entre los que se encuentran: Inmunodepresión que desencadena Infecciones leves a severas (73%), alteraciones de la función hepática, alteraciones de las líneas celulares como trombocitosis, Neutropenia, Anemia (1-2%), Hipertensión (22-31%), edema periférico (6%). No obstante, no existe actualmente estudios de correlación entre el inmunofenotipo de células b reguladoras y natural killer previo al trasplante y posterior al mismo sin rechazo ya que el estímulo inmunológico antes y después del trasplante puede verse modificado por los fármacos inmunomoduladores usados al momento del trasplante.

Por esta razón se decide realizar este estudio que permita medir la magnitud de la relación de la respuesta inmunología `por inmunofenotipos medida por citometría de flujo entre los pacientes con Enfermedad renal Crónica estadio V de la NKF y pacientes con trasplante renal sin rechazo su estado celular medido por

citometría de flujo y encontrar factores relacionados entre estos dos grupos de poblaciones celulares.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿EXISTE UNA CORRELACION DE INMUNOFENOTIPOS DE SUBPOBLACIONES ESPECIALES DE CELULAS B REFULADORAS Y CELULAS NATURAL KILLER EN SANGRE PERIFERICA MEDIDOS POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO 5 DE LA NKF Y PACIENTES DE TRASPLANTE RENAL SIN RECHAZO?

HIPOTESIS

HIPOTESIS VERDADERA:

Si existe correlación en los pacientes con enfermedad renal crónica en estadio V de la NKF y pacientes de trasplante sin rechazo de Inmunofenotipos de subpoblaciones especiales de Células B reguladoras y células NK en sangre periférica medidas por citometría de flujo

HIPOTESIS NULA:

No existe correlación en los pacientes con enfermedad renal crónica en estadio V de la NKF y pacientes de trasplante sin rechazo de Inmunofenotipos de subpoblaciones especiales de Células B reguladoras y células NK en sangre periférica medidas por citometría de flujo

OBJETIVO GENERAL

MEDIR LA CORRELACION DE INMUNOFENOTIPOS DE SUBPOBLACIONES ESPECIALES DE CELULAS B REGULADORAS Y CELULAS NK EN SANGRE PERIFERICA MEDIDOS POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO 5 DE LA NKF Y PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL SIN RECHAZO

OBJETIVO ESPECIFICO

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ➔ IDENTIFICAR LA CORRELACION DE CELULAS NK EN SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO V DE A NKF Y PACIENTES DE TRASPLANTE SIN RECHAZO
- ➔ IDENTIFICAR LA CORRELACION DE CELULAS B REGULADORAS EN SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO V DE LA NKF Y PACIENTES DE TRASPLANTE RENAL SIN RECHAZO
- ➔ IDENTIFICAR LA CORRELACION DE LAS CELULAS B REGULADORAS Y CELULAS NK EN SANGRE PERIFERICA IDENTIFICADOS POR CITOMETRIA DE FLUJO A LO LARGO DEL TIEMPO EN LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN ESTADIO V DE LA NKF Y PACIENETS DE TRASPLANTE RENAL SIN RECHAZO

TIPO DE ESTUDIO

El estudio esta diseñado como un estudio Observacional de características Transversales por temporalidad, así como Retrospectivo con análisis de resultados de laboratorios de la base de datos del Hospital central sur de alta especialidad para posteriormente la realización de análisis de datos de tipo Inferencial respecto a lo resultados.

DISEÑO

UNIVERSO DEL ESTUDIO

Todo paciente que se encuentren en el sistema de datos del Hospital de Pemex que hayan sido atendidos en el Hospital Central Sur de Alta especialidad en el área de Nefrología

UNIDADES DE OBSERVACION:

Todo paciente que se encuentren en el Hospital Central Sur de Alta especialidad y que cuenten con el diagnostico de Enfermedad Renal Crónica estadio clínico V de la KDIGO y aquellos que cuenten con el antecedente de trasplante renal Sin rechazo

TIPO DE MUESTREO:

AL AZAR NO PROBABILISTICO

CALCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA POR DIFERENCIA DE PROPORCIONES:

Se realizó un cálculo de tamaño de muestra para calcular una diferencia de medias entre las dos poblaciones estudiadas (Pacientes en estadio V de la NKF y Pacientes post trasplantados sin rechazo) y la presencia de Inmunofenotipos de subpoblaciones especiales de células B reguladoras y células NK en sangre periférica. Se estimo que para un intervalo de confianza esperado del 95% y con un poder de al menos el 80% se necesitarían al menos 50 pacientes para un error Alfa del 0.05.

Todo paciente que se encuentren en el sistema de datos del Hospital de Pemex que hayan sido atendidos en el Hospital Central Sur de Alta especialidad en el área de Nefrología

UNIDADES DE OBSERVACIÓN

Todo paciente que se encuentren en el Hospital Central Sur de Alta especialidad y que cuenten con el diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica estadio clínico V de la KDIGO y aquellos que cuenten con el antecedente de trasplante renal Sin rechazo

TIPO DE MUESTREO

AL AZAR NO PROBABILISTICO

TAMAÑO DE MUESTRA: DIFERENCIA DE PROPORCIONES

Se realizará un cálculo de tamaño de muestra para calcular una diferencia de medias entre las dos poblaciones estudiadas (Pacientes en estadio V de la NKF y Pacientes post trasplantados sin rechazo) y la presencia de Inmunofenotipos de subpoblaciones especiales de células B reguladoras y células NK en sangre periférica. Se estimó que para un intervalo de confianza esperado del 95% y con un poder de al menos el 80% se necesitarían al menos 50 pacientes para un error Alfa del 0.05.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN, NO INCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

→ CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes mayores de 18 años con el diagnóstico de Enfermedad renal crónica Estadio V de la KDIGO

- Pacientes mayores de 18 años que hayan presentado un trasplante renal Alogénico sin rechazo al momento del estudio

→ CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Pacientes mayores de 18 años con el diagnostico de Enfermedad renal crónica Estadio I – IV
- Pacientes mayores de 18 años con Diagnostico de Rechazo renal crónico establecido que se encuentren nuevamente con terapia de remplazo renal o sin ella

VARIABLES DEL ESTUDIO

TIPO DE VARIABLE		VARIABLE	FORMA DE MEDICION	DEFINICION DE LA VARIABLE	PRUEBA
CUALITATIVAS	DICOTOMICAS	Sexo	Mujer/Hombre	Conjunto de las peculiaridades que caracterizan los individuos de una especie dividiéndolos en masculinos y femeninos, y hacen posible una reproducción que se caracteriza por una diversificación genética	Chi- Cuadrada
		Hipertensión	SI/NO	Paciente con diagnostico ya conocido o que se encuentre cursando con una presión arterial sistólica >140mmHg o presión arterial diastólica >90 mmHg en más de 1 toma consecutiva	Chi- Cuadrada
		Diabetes	SI/NO	Cualquier Individuo que se encuentre confirmado con el diagnostico o que haya cumplido en algún momento alguna de las siguientes características: 1.- Hemoglobina Glicosilada mayor a 6.5% en 2 ocasiones, 2.- Glucosa al Azar >200mg/dl en cualquier momento + Síntomas 3.- Glucosa en ayuno >126mg/dl en 2 ocasiones 4.- Glucosa postprandial >200 miligramos a las 2 horas tras una carga de glucosa de 75 gramos.	Chi Cuadrada
		USO DE ESTEROIDE	Si/No	El empleo de dosis de Esteroide en el tratamiento del paciente con trasplante renal sin rechazo	Chi Cuadrada
		TABAQUISMO	SI/NO	Pacientes que cursen con un Índice tabáquico mayor a 10	Chi Cuadrada
		USO DE TIMOGLOBULINA	SI/NO	El empleo de Dosis de Timoglobulina en el tratamiento del paciente con Trasplante renal sin rechazo	Chi Cuadrada
		USO DE MICOFENOLATO DE MOFETILO	SI/NO	Empleo De Micofenolato de Mofetilo en el tratamiento del paciente con Trasplante renal sin rechazo	Chi Cuadrada
	POLITOMICAS	TIEMPO DE TRANSPLANTE RENAL	MESES	Tiempo en meses cumplidos	Chi Cuadrada
		TIPO DE REPLAZO DURANTE LA ENFERMEDAD RENAL CRONICA	DIALISIS PERITONEAL/ HEMODIALISIS/ NINGUNA	Tipo de terapia de remplazo renal utilizada en los pacientes con Enfermedad renal crónica Estadio 5 de la NKF	U – Man W/ Krustal W
USO DE CICLOSPORINA		SUPERIORES// INFERIORES// OPTIMOS// NO USO	Empleo de Ciclosporina en el tratamiento del paciente con Trasplante renal sin rechazo y sus niveles en relación con Niveles óptimos, Superiores, Inferiores o su no uso	U – Man Q/ Krustal W	
CUANTITATIVAS CONTINUAS	Discreta	CD 1d + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 1d IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD3 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD3 IMF	Unidades Numéricas continuas	Intensidad media de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD4 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD4 IMF	Unidades Numéricas continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 5+ %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 5 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD16 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W

		CD 16 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 19 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 19 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 24+ %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 24 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 25 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
TIPO DE VARIABLE		VARIABLE	FORMA DE MEDICION	DEFINICION DE LA VARIABLE	PRUEBA
CUANTITATIVAS CONTINUAS	Discreta	CD25 IMF	Unidades Numéricas continuas	Intensidad media de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD28+%	Puntos Porcentuales	Proporción de Células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD28 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad medida de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 56 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 56 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 152 + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 152 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 279 (PD1) + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		CD 279 (PD1) IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		FOXP3 %	Puntos Porcentuales	Proporción de Células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		FOXP3 IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de Fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		ICOS + %	Puntos Porcentuales	Proporción de células con este marcador	U-Man W / Krustal W
		ICOS IMF	Unidades Numéricas Continuas	Intensidad media de fluorescencia emitida por este marcador	U-Man W / Krustal W
		Edad	Años	Número de años cumplidos desde el nacimiento hasta la fecha en que se recabo la información del paciente	T - Student

RECURSOS Y LOGISTICA (CALENDARIO Y COSTOS)

CRONOGRAMA

#	ACTIVIDAD	Mes Calendario Programado AÑO 2022											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Realización de marco teórico												
	Realización de plan estadístico												
	Recolección de Información												

#	ACTIVIDAD	Mes Calendario Programado AÑO 2023											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	ANALISIS DE RESULTADOS												
	DISCUSION												
	CONCLUSIONES Y LIMITACIONES												

RECURSOS

CONCEPTO	NÚMERO	COSTO UNITARIO (paciente, caso, muestra, encuesta, etc.).	SUBTOTAL
Recursos Materiales			
<i>Recolección de información en Base de datos</i>	<i>18 pacientes</i>	<i>0 MXN</i>	<i>0 MXN</i>
TOTAL			<u>0 MXN</u>

COSIDERACIONES ETICAS

En apego a las normas éticas de la declaración de Helsinki y al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la participación de los pacientes en este estudio conlleva un tipo de riesgo mínimo para el paciente, ya que los estudios que entran en esta categoría de riesgo implican técnicas y métodos de investigación documental que son Retrospectivos y no se realiza alguna intervención directa o indirecta con el paciente, tampoco se realizan modificaciones intencionadas o no intencionadas que pudieran provocar alguna alteración en el estado Fisiológico, Psicológico, hemodinámico o social de los individuos implicados durante la realización de esta investigación.

En relación con lo anterior la carta de consentimiento informado no debe ser un requisito para solicitar autorización para la realización del protocolo de investigación (*"Titulo segundo, Capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo"*)

Para salvaguardar la confidencialidad, así como los datos personales de los pacientes involucrados en este protocolo de investigación, se emplearán las pautas descritas en la Norma Oficial 004-SSA3-2012, de esta forma se emplearán las siguientes medidas para evitar la dispersión de los datos y que se realice un mal uso de estos

- 1.- Todos los datos obtenidos del expediente clínico serán registrados con un numero de Ficha y nunca con el nombre del paciente
- 2.- Todos los datos serán manejados en una USB encriptada en formato .ZIP que "SOLO" las personas involucradas en este protocolo conocerán (Dr. Carlos Angel Hernandez Belmont, DR Luis Raúl López y López, DR. Carmona Escamilla Marco Antonio, DR Martin Coronado Malagón)
- 3.- Los datos obtenidos solo serán utilizados con fines descriptivos para este estudio

4.- Una vez Terminado el protocolo de estudio, los datos de los pacientes continuaran resguardados en formato .ZIP en la USB antes señalada y será almacenada con el fin de futuras investigaciones por los investigadores principales de esta Tesis y podrá ser utilizada "SOLO" previa solicitud por escrito enviada a los Investigadores titulares (DR Luis Raúl López y López, DR. Carmona Escamilla Marco Antonio, DR Martin Coronado Malagón), con copia a dirección medica y al área de enseñanza del Hospital Central Sur de Alta especialidad de Petróleos Mexicanos

RESULTADOS

Desde enero del 2021 a diciembre del 2022 se recolectaron un total de 17 pacientes donde la edad Media era de 51 años (DE \pm 14.79), dentro de los cuales 11 de ellos eran Hombres (64.7%). Presentaban un IMC con una mediana de 26 (IQ 24.49 - 28.9), con comorbilidades que incluyen Hipertensión arterial en 5 de ellos (29.4%) y Diabetes tipo 2 (17.6%). Este grupo poblacional se dividió en la variable categórica de 7 trasplantados (41.1%) y no trasplantados (58.8%).

Entre el grupo de trasplantados se encontró que la duración media de la Enfermedad renal crónica había sido de 65 meses (DE \pm 24.8) y que 4 que fueron de donador cadavérico (57.1%) de los cuales la mediana de duración de isquemia fría fue de 1.9 (IQ 0 - 15). En este grupo 4 Recibieron timoglobulina como terapia de inducción (57.1%), 6 se encontraban en terapia con Micofenolato al momento del estudio (85.7%), 6 con Ciclosporina (85.7%).

La duración media de enfermedad renal crónica en el grupo de pacientes no trasplantados había sido de 208 meses (DE \pm 43.2). (TABLA 1)

TABLA 1. VIARIABLES DEMOGRAFICAS

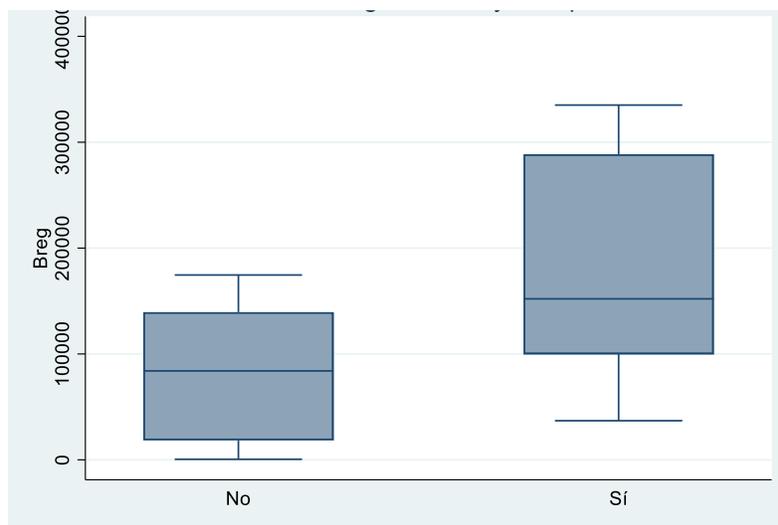
	TOTAL N= 17	Trasplantados N = 7 (41.1%)	No Trasplantados N = 10 (58.8%)	Valor P
Edad (Años) (IQ)	50.58 +- 14.79	52.28 +- 13.5	49.4 +- 16.20	0.383
Sexo (Masculino) %	11 (64.7%)	4 (57.1%)	7 (70%)	
IMC (DE)	26.1 (24.49 - 28.9)	26.29 (24.09 - 30.04)	26.035 (24.49 - 28.9)	0.001
HAS (Si) %	5 (29.4%)	3 (42.85%)	2 (20%)	
DM (Si) %	3 (17.6%)	2 (28.5%)	1 (10%)	
Donador Cadavérico (Si) %	4 (23.5%)	4 (57.1%)	0	
Timoglobulina (Si) %	4 (23.5%)	4 (57.1%)	0	
Uso de Micofenolato (Si) %	6 (35.2%)	6 (85.7%)	0	
Uso de Ciclosporina (Si) %	6 (35.2%)	6 (85.7%)	0	
Duración ERC (Meses), DE	78 +- 35.44	65.14 +- 24.84	208 +- 43.26	0.224
Isquemia fría (Horas), IQ	0.5 (0 - 2.1)	1.9 (0 - 15)	0	0.000
Hemoglobina (g/dl), DE	15.004 +- 2.21	16.04 +- 2.1	14.27 +- 2.02	0.933
Leucocitos (Cel/mm3), IQ	6.35 (4.29 - 8.2)	6.5 (4.73 - 7.83)	4.75 (4.23 - 9.35)	0.030
Linfocitos (Cel/Microlitro), DE	1.3 +- 0.43	1.30 +- 0.48	1.31 +- 0.41	0.060
neutrófilos (Cel/ Microlitro), IQ	2.56 (2.3 - 5.46)	3.96 (3.34 - 5.46)	2.55 (2.26 - 5.78)	0.002
Monocitos (Cel/Microlitro), IQ	0.38 (0.35 - 0.65)	0.52 (0.35 - 0.65)	0.33 (0.15 - 0.69)	0.030
Creatinina (mg/dl), IQ	1.32 (0.91 - 3.52)	1.1 (0.9 - 1.48)	9.07 (3.52 - 9.18)	0.003
Cel. B reguladoras (Cel/Microlitro)	99831 (63918 - 152067)	99831 (63918 - 288615)	83995 (18488 - 139500)	0.145
CD 38 (IMF), DE	506 +- 96.2	526 +- 88	491 +- 103	0.242
CD 24 (IMF), IQ	1237 (1125 - 1591)	1154 (1055 - 1731)	1270 (1220 - 1591)	0.000
CD 19 (IMF), IQ	1307 (968 - 1976)	1342 (1202 - 2144)	1168.5 (817 - 1976)	0.000
IL 10 (IMF), IQ	138 (126 - 140)	138 (129 - 142)	134 (122 - 140)	0.011
NK (Cel/Microlitro) IQ	118927 (89518 - 209022)	209022 (143045 - 400081)	97235 (35944 - 116504)	0.012
CD 56 (IMF) IQ	236.82 +- 66.16	227 +- 27.79	243.3 +- 84.5	0.299
CD 57 (IMF) DE	912+- 357	1027+-341	832+-363	0.833
CD 16 (IMF), IQ	1853 (1014 - 2771)	2029 (1788 - 3305)	1606 (677 - 2588)	0.244

A ambos grupos se les realizó citometría de flujo para determinar la cantidad de células B reguladoras identificadas con Inmunofenotipo de CD 38, CD 24, CD 19 y células NK con Inmunofenotipo de CD 56, CD 57, CD 16, encontrando que en el grupo de trasplantados la mediana de células B reguladoras era de 99, 831 células/Microlitro (IQ 63, 918 - 288, 615), con una Intensidad media de fluorescencia de CD 19 1,342 (IQ 1202 -

2144), células NK/Microlitro con una mediana de 209, 022 (IQ 143, 045 - 400,081) con una intensidad media de fluorescencia de CD 16 de 2, 029 (IQ 1,788 - 3,305), mientras que en el grupo de No trasplantado se encontró con un total de células B reguladoras de 83, 995 células Microlitro (IQ 18, 488- 139, 500) con una Intensidad media de fluorescencia de CD 19 con medianas de 1,168 (IQ 817 - 1976) y células NK/Microlitro de 97, 235 (IQ 35, 944 - 116, 504) con una Intensidad media de fluorescencia de CD 16 con 1,606 (IQ 677- 2588)

Con estos hallazgos se realizaron pruebas de Normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la distribución de las células B reguladoras en los grupos de trasplantados y no trasplantados, encontrando una distribución normal con una $P > 0.05$. Al comparar la diferencia de medias entre ambos grupos a través de la T-Student con valor de 0.03, con una media de $175,770 \pm 103,677$ en comparación con el grupo de No trasplantados con una media de $80,280 \pm 61,561$. (GRAFICO 1) (Pruebas de Normalidad ver en Anexos)

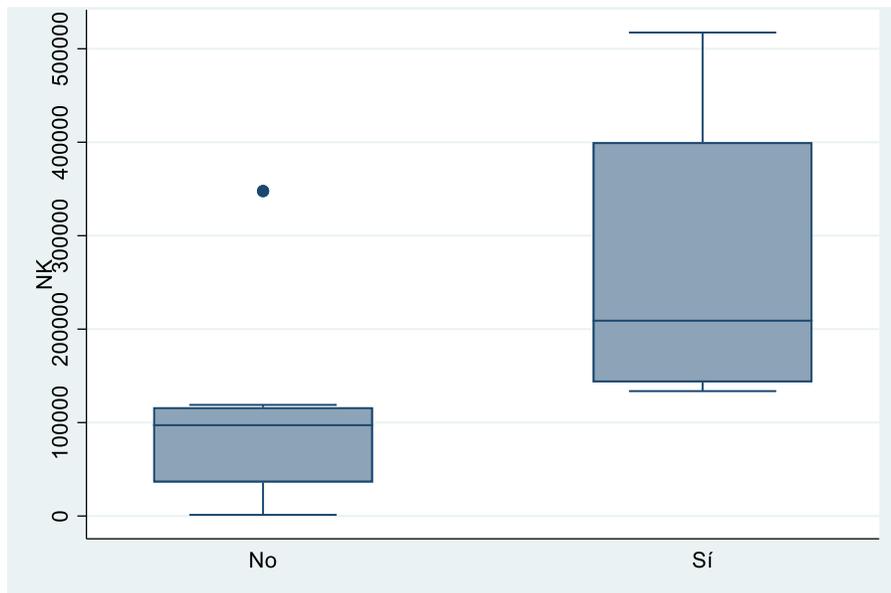
Gráfico 1. Boxplot de células B reguladoras en trasplantados y no trasplantados



En la variable categórica de Trasplantados y no trasplantados con la variable cuantitativa de células NK encontramos una $P < 0.05$. Se procedió a realizar una prueba de U de Mann-Whitney con $P = 0.03$, con una función de distribución de las Células NK entre las categorías de Trasplantados y no Trasplantados con una mediana en el grupo de SI trasplantados siendo de 209, 022(143, 045 – 400, 081) comparado con el grupo de

NO Trasplantados con una mediana de 97, 235 (35, 944 – 116, 504) (Grafico 2) (Pruebas de normalidad ver en Anexos)

GRAFICO 2. Células NK en Trasplantados y no Trasplantados



Se realizó una correlación de Spearman en la población de células B reguladoras (CD 19, CD 38 CD 56) entre los pacientes con enfermedad renal crónica y trasplante renal, encontrando una $R = 0.03$ con una $P = 0.95$, además se realizó una correlación de células NK (CD56, CD 57, CD 16) entre pacientes con Enfermedad Renal Crónica y Pacientes con trasplante renal encontrando una $R=0.64$ con una $P = 0.13$

DISCUSION

En este estudio realizado entre los pacientes que se encuentran con Enfermedad renal crónica y pacientes con trasplante renal sin rechazo no se encontró una correlación lineal entre inmunofenotipos de Células B reguladoras y Células NK como podríamos esperar con la respuesta inmunomoduladora. Las células NK en pacientes con Enfermedad renal crónica y su papel fisiopatológico es perpetuar una respuesta inmunológica en este grupo de pacientes y representado en artículos publicados como el de Jan-Eric et.al (13) donde se comenta abiertamente que las células NK tienen una

función potencial en perpetuar esta respuesta inmunológica. Un ejemplo es la NTA donde se expresan patrones moleculares asociados a daño que estimularían los receptores TLR2 en las células endoteliales tubulares, y que estas a su vez liberarían osteopontina. que inducen quimiotaxis de las células NK. Una vez activadas, las Células NK Activan los receptores M1 de los macrófagos a través del Receptore NKp46 lo que perpetua la respuesta inflamatoria.

Los resultados no fueron los esperados debido a que no encontramos una correlación entre ambos grupos poblacionales ya que como nos sugieren autores como Alexandre Nouel et. Al (14), en un trasplante renal, la presencia de las células B reguladoras tendrían una relación directa en mantener la función y duración del injerto renal, relacionándose el numero celular con una adecuada tolerancia al injerto renal

Los pacientes Postrasplantados presentaron mayores células B reguladoras en comparación con los pacientes en Enfermedad renal crónica terminal, encontrando una diferencia estadísticamente significativa con una $P= 0.03$, situación esperada ya que las células B reguladoras y/o la supresión de células B efectoras pueden mejorar la Inmunotolerancia en pacientes postrasplantados, como es reportado por autores como Jinfeng Li et.al (15) concluyendo que las Células B reguladoras suprimen el sistema inmunitario a través de interacciones conocidas como ligando-receptor y su secreción a través de Citocinas inmunosupresoras como es la IL-10, considerándose este grupo celular como Efectores negativos de la respuesta inmunológica.

De igual manera en los pacientes postrasplantados se encontró una diferencia estadísticamente significativa de células NK en pacientes trasplantados sin datos de rechazo en comparación con aquellos no trasplantados con una $P 0.003$, hallazgo esperado ya que como se mencionó previamente, las células NK se encuentran involucrada en varias facetas del rechazo del injerto mediado por anticuerpos, lo cual ha sido demostrado en varias ocasiones en ratones (16,17) donde su principal papel fue la unión del anticuerpo específico del donante, lo que nos podría hablar de una actividad inmunológica silente en el grupo de pacientes que no han aun presentado datos clínicos de rechazo renal.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones ya que, a pesar del amplio periodo de estudio, no se logró el número de pacientes deseados para denotar una diferencia estadísticamente significativa, ya que, a pesar de haber encontrado una diferencia estadísticamente significativa en el número total de Células, esto no podría ser dato de alarma para la población en general, sin embargo, consideramos que podría ser dato de alarma para la población estudiada como un posible rechazo renal subclínico. En segunda, La correlación de los pacientes a pesar de haber utilizado las pruebas estadísticas necesarias pudieron verse alteradas por el número de pacientes. En tercera, consideramos la toma de la citometría de flujo sin haber estado en un tiempo postrasplante definido podría alterar los resultados tanto de Células B reguladoras como de Células NK y nuestros hallazgos tendrían que ser corroborados con un nuevo estudio controlando dichas variables y tomado en pacientes previo al trasplante y postrasplante.

CONCLUSIONES

Tras la evidencia revisada durante este protocolo de investigación, varios autores ya han concluido que la presencia de células B reguladoras tienen la función de una adecuada inmunotolerancia en paciente que se han visto sometidos a la realización de un Inmunoinjerto y que su número total en sangre periférica tiene una relación directamente proporcional con la tolerancia y retraso en el rechazo Humoral crónico, además las células NK también tienen un papel muy importante en los pacientes postrasplantados los cuales tienen una relación Inversamente proporcional a dicha tolerancia.

Teniendo en cuenta los hallazgos de autores previos, podemos considerar que nuestros pacientes tienen un estado inmunológico proinflamatorio con respuesta antiinflamatoria por células B, sin embargo no es posible detectar en este momento si se encuentran en el periodo de un rechazo subclínico o una homeostasis inmunológica con adecuada tolerancia ya que nuestro estudio fue meramente descriptivo y para poder llegar a dicha conclusión es necesario un estudio prospectivo con una línea celular basal pre-trasplante y varios cortes post trasplante, para que de esta forma se

pueda detectar una homeostasis alterada conforme pase el tiempo de trasplante renal. Es por esta razón que nuestro estudio permitirá nuevas líneas de investigación de manera prospectiva para determinar a largo plazo si el número de células B reguladoras y de células NK se ven directamente alteradas en el rechazo subclínico del trasplante renal

Al final del protocolo concluimos que las células B reguladoras y NK no tienen una correlación lineal, presentando una amplia dispersión en nuestro grupo poblacional que pudo verse afectada por el número de pacientes, sin embargo, el número neto si es diferente en cada grupo pre y post trasplante, lo cual muestra de una manera clara que la homeostasis inmunológica si se encuentra alterada en los pacientes postrasplantados, sin embargo estos hallazgos deberán ser confirmados en futuras investigaciones.

REFERENCIAS

1. Liu B cheng, Lan H yao. *Advances in Experimental Medicine and Biology Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies*. 2019. 3–15 p.
2. Braun MM, Khayat M. *Kidney Disease: Chronic Kidney Disease*. *FP Essent*. 2021;509(Suppl 1):20–5.
3. *Chronic kidney disease in the general population*. *American Journal of Kidney Diseases*. 2012;59(1 SUPPL 1).
4. Sánchez-Cedillo A, Cruz-Santiago José, Mariño-Rojas FB, Hernández-Estrada S, García-Ramírez C. Carga de la enfermedad: insuficiencia renal, diálisis-hemodiálisis y trasplante renal en México. Costo de la enfermedad. *Revista Mexicana de Trasplantes*. 2020;9(1):15–25.
5. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, et al. Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *New England Journal of Medicine*. 1999;341(23):1725–30.
6. Massie AB, Luo X, Chow EKH, Alejo JL, Desai NM, Segev DL. Survival benefit of primary deceased donor transplantation with high-KDPI kidneys. *American Journal of Transplantation*. 2014;14(10):2310–6.
7. Romano M, Fanelli G, Albany CJ, Giganti G, Lombardi G. Past, present, and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2019.
8. Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. Vol. 8, *Nature Reviews Immunology*. 2008. p. 523–32.
9. Kraaijeveld R, de Graav GN, Dieterich M, Litjens NHR, Hesselink DA, Baan CC. Co-inhibitory profile and cytotoxicity of CD57+PD-1– T cells in end-stage renal disease patients. *Clin Exp Immunol*. 2018 Mar 1;191(3):363–72.
10. Borges TJ, Murakami N, Lape IT, Gassen RB, Liu K, Cai S, et al. Overexpression of PD-1 on T cells promotes tolerance in cardiac transplantation via ICOS-dependent mechanisms. *JCI Insight*. 2021 Dec 22;6(24).

11. Lo DJ, Anderson DJ, Song M, Leopardi F, Farris AB, Strobert E, et al. A pilot trial targeting the icos-icos-I pathway in nonhuman primate kidney transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2015 Apr 1;15(4):984–92.
12. Poggio ED, Augustine JJ, Arrigain S, Brennan DC, Schold JD. Long-term kidney transplant graft survival—Making progress when most needed. *American Journal of Transplantation*. 2021 Aug 1;21(8):2824–32.
13. Turner JE, Rickassel C, Healy H, Kassianos AJ. Natural killer cells in kidney health and disease. *Front Immunol*. 2019;10(MAR):1–7.
14. Nouël A, Ségalen I, Jamin C, Doucet L, Caillard S, Renaudineau Y, et al. B cells display an abnormal distribution and an impaired suppressive function in patients with chronic antibody-mediated rejection. *Kidney Int*. 2014;85(3):590–9.
15. Li J, Luo Y, Wang X, Feng G. Regulatory B cells and advances in transplantation. Vol. 105, *Journal of Leukocyte Biology*. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 657–68.
16. Yagisawa T, Tanaka T, Miyairi S, Tanabe K, Dvorina N, Yokoyama WM, et al. In the absence of natural killer cell activation donor-specific antibody mediates chronic, but not acute, kidney allograft rejection. *Kidney Int*. 2019 feb 1;95(2):350–62.
17. Ashraf MI, Sarwar A, Köhl AA, Hunger E, Sattler A, Aigner F, et al. Natural Killer Cells Promote Kidney Graft Rejection Independently of Cyclosporine A Therapy. *Front Immunol*. 2019 Sep 24;10.

ANEXOS

VERIFICACION DE NORMALIDAD

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
Breg	10	0.92874	1.098	0.162	0.43566

.

. swilk Breg if Trasplantado==1

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
Breg	7	0.93757	0.820	-0.298	0.61696

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob
NK	10	0.77820	3.418	2.415	0.007

.

. swilk NK if Trasplantado ==1

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob
NK	7	0.79836	2.648	1.757	0.039

TABLA DE CORRELACIONES 1

Correlación de células B reguladoras con Enfermedad Renal Crónica y Transplante renal

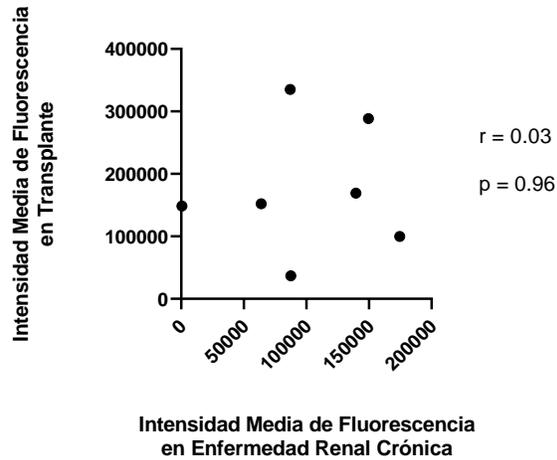
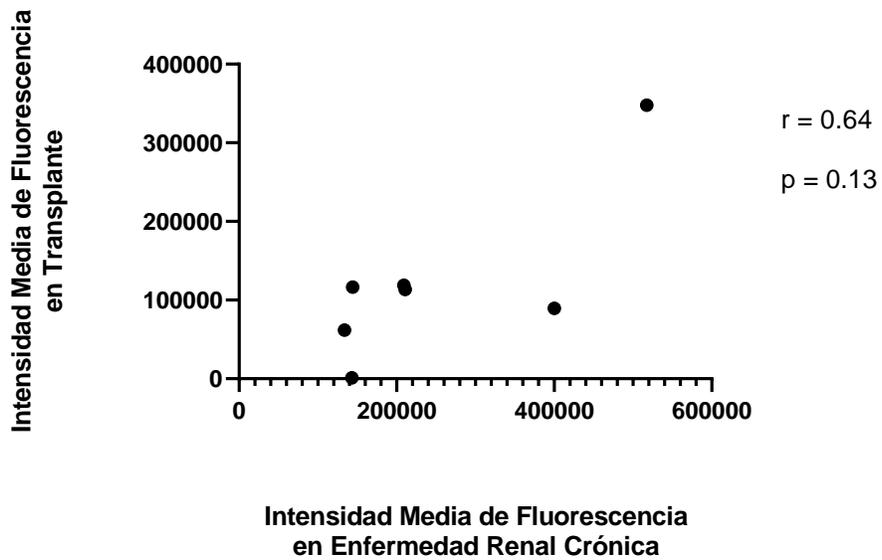
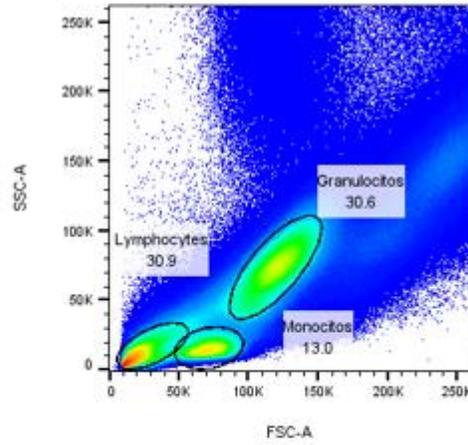
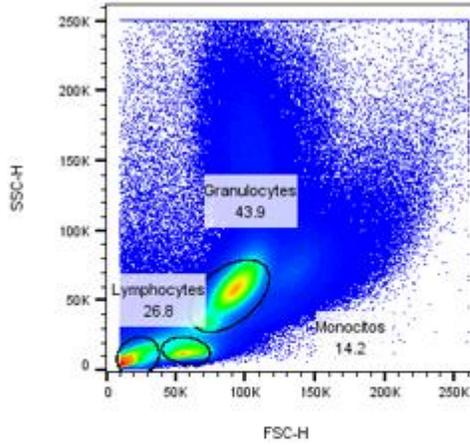


TABLA DE CORRELACIONES 2

Correlación de células Natural Killer con Enfermedad Renal Crónica y Transplante renal



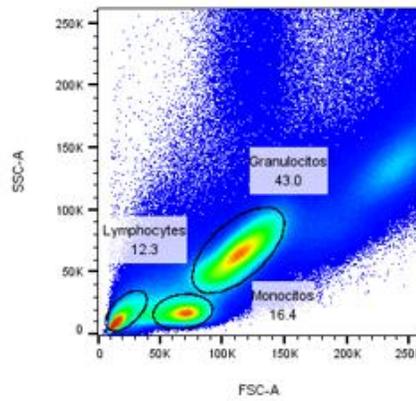
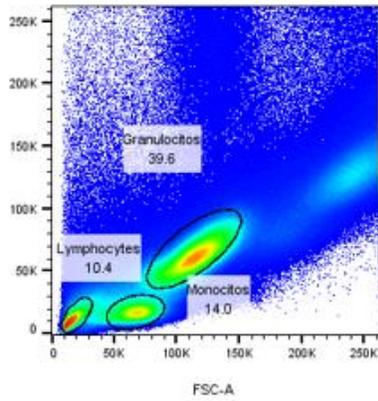
PACIENTE 1



·# Celular → 4,511,300
Linf → 963,002
Statistic → 21.3

·# Celular → 5,617,200
Linf → 1,738,489
Statistic → 30.9

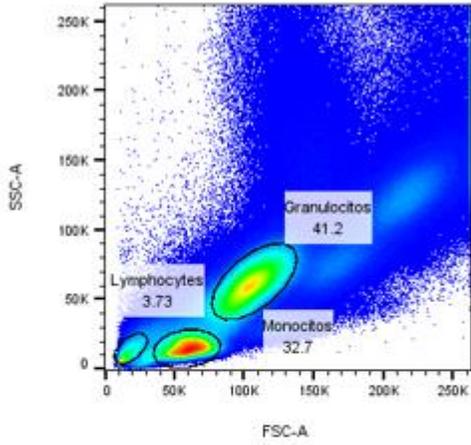
PACIENTE 2



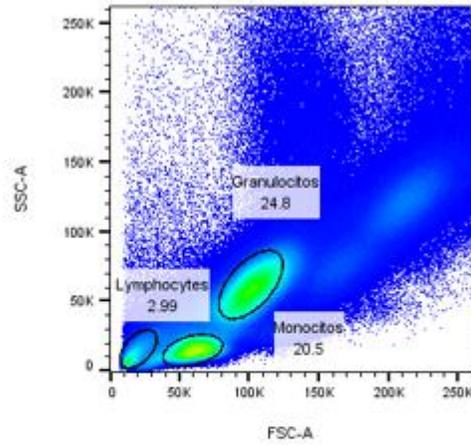
·# Celular Total → 4,432,575
Linf → 461,127
Statistic → 10.4

·# Celular Total → 44,007,175
Linf → 484,673
Statistic → 12.1

PACIENTE 3

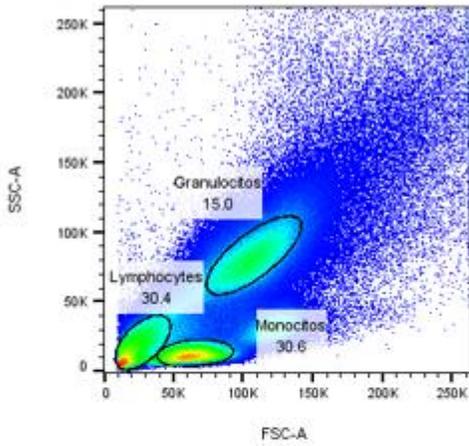


·# Celular → 5,628,775
Linf → 210,149
Estatistic → 3.73

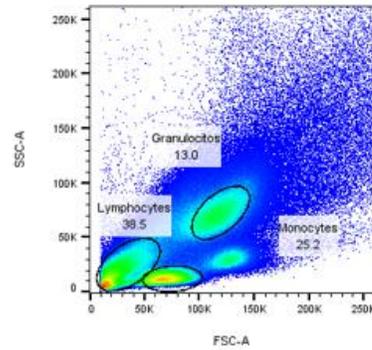


·# Celular → 5,235,500
Linf → 156,302
Estatistic → 2.99

PACIENTE 4

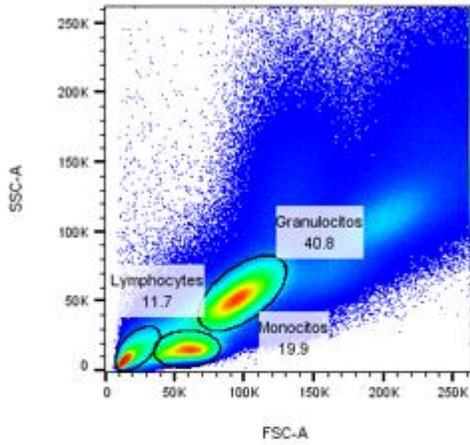


·# Celular → 957,825
Linf → 290,703
Statistic → 30.4

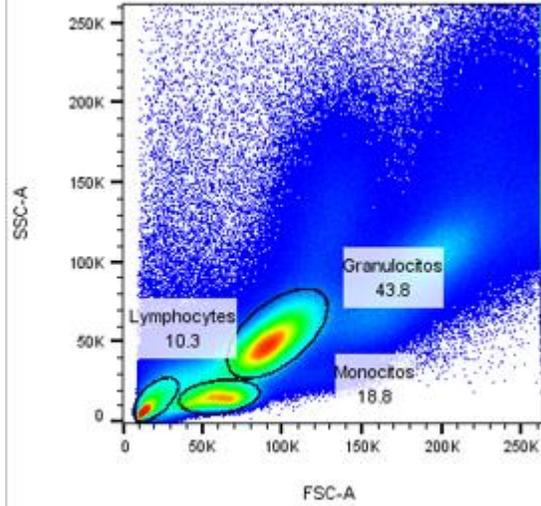


·# Celular → 972,625
Linf → 374,643
Statistic → 38.5

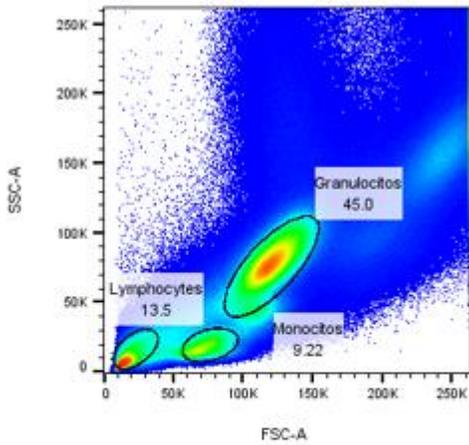
PACIENTE 5



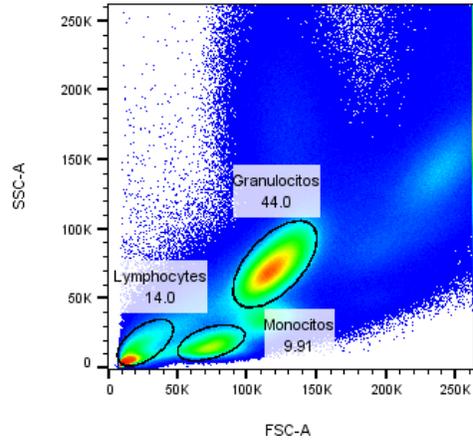
Celular → 4,016,075
 Linf → 469,114
 Statistic → 11.7



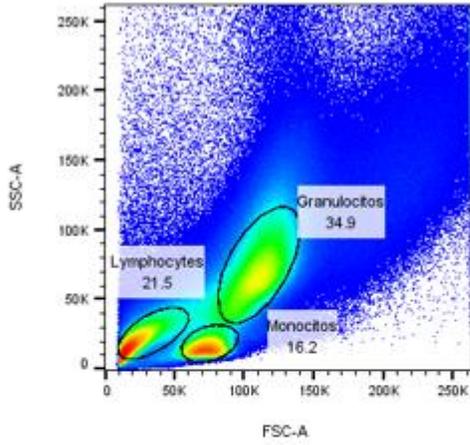
PACIENTE 6



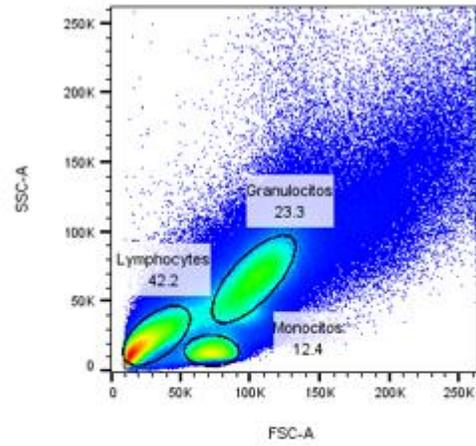
Celular → 6,352,750
 Linf → 858,644
 Statistic → 13.5



PACIENTE 7

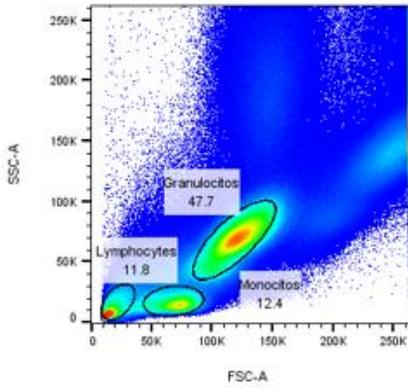


·# Celular → 3, 402, 700
Linf → 733, 278
Statistic → 21.5

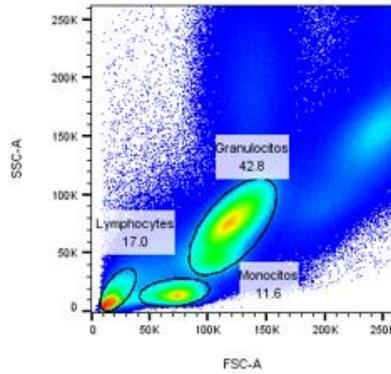


·# Celular → 1, 659, 025
Linf → 700, 710
Statistic → 42.2

PACIENTE 8

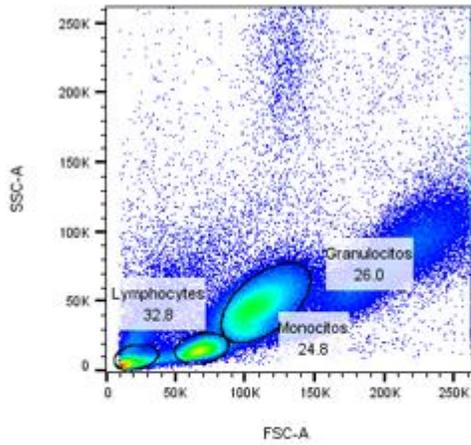


·# Celular → 4, 602, 850
Linf → 542, 220
Statistic → 11.8

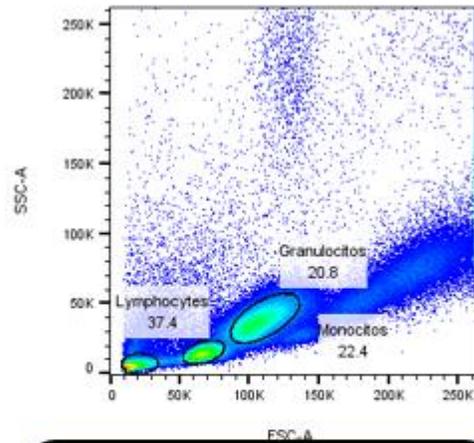


·# Celular → 4, 447, 150
Linf → 757, 323
Statistic → 17.0

PACIENTE 9

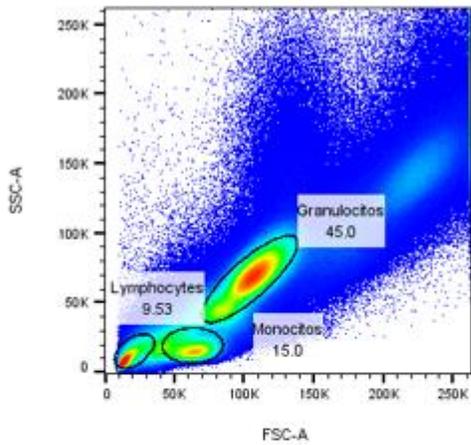


·# Celular → 430, 675
Linf → 141, 206
Statistic → 32.8

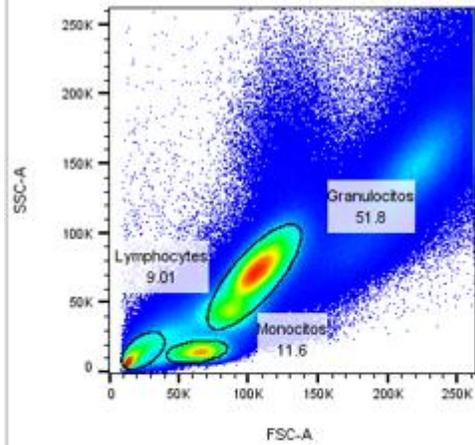


·# Celular → 464, 325
Linf → 173, 509
Statistic → 37.4

PACIENTE 10

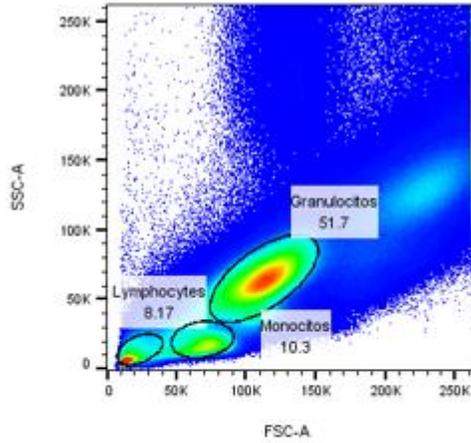


·# Celular → 4, 009, 425
Linf → 381, 973
Statistic → 9.53

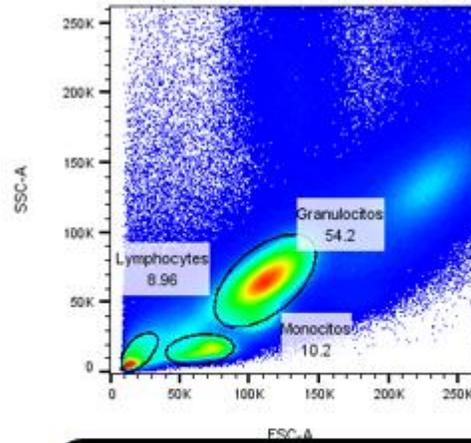


·# Celular → 3, 386, 225
Linf → 305,007
Statistic → 9.01

PACIENTE 11

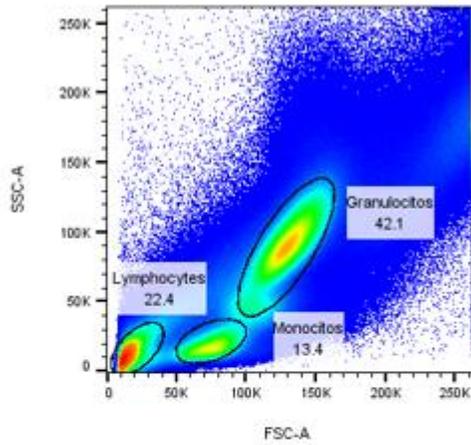


·# Celular → 6, 252, 100
Linf → 510, 752
Statistic → 8.17



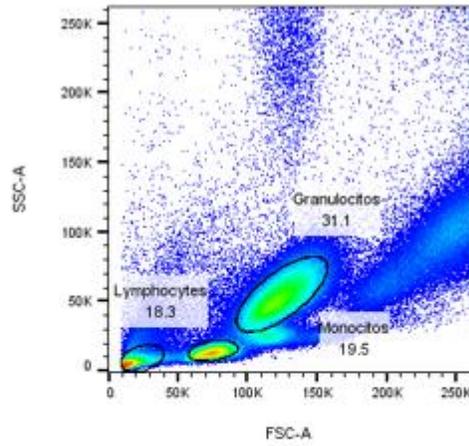
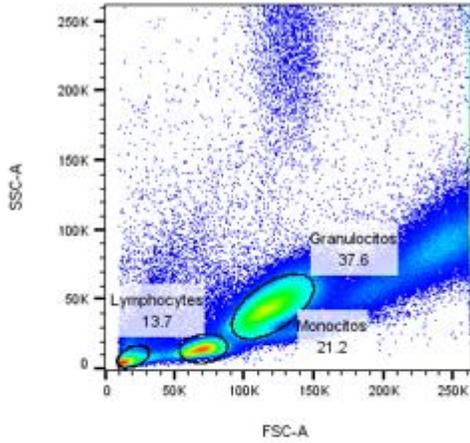
·# Celular → 6, 010, 900
Linf → 538, 832
Statistic → 8.96

PACIENTE 12



·# Celular → 6, 442, 675
Linf → 1, 445, 323
Statistic → 22.4

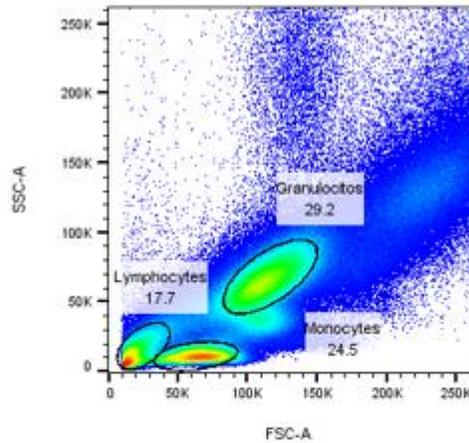
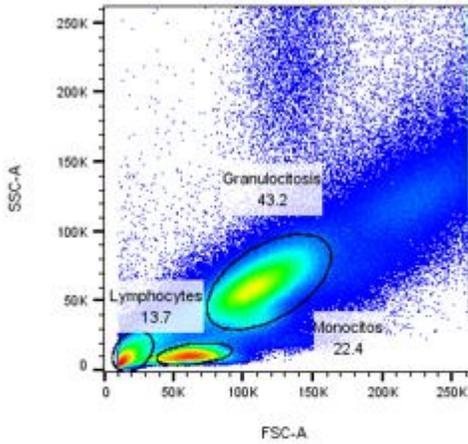
PACIENTE 13



·# Celular → 500,000
Linf → 68,679
Statistic → 13.7

·# Celular → 470,350
Linf → 86,004
Statistic → 18.3

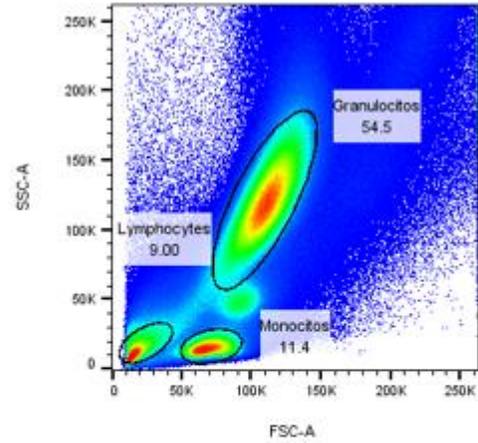
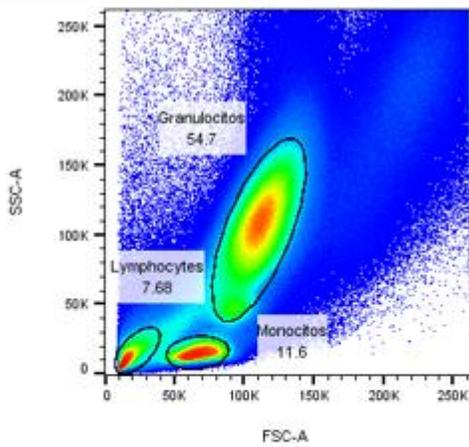
PACIENTE 14



·# Celular → 1,080,675
Linf → 147,922
Statistic → 13.7

·# Celular → 1,090,950
Linf → 193,307
Statistic → 17.7

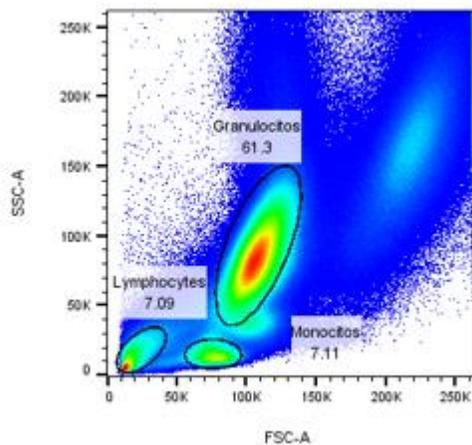
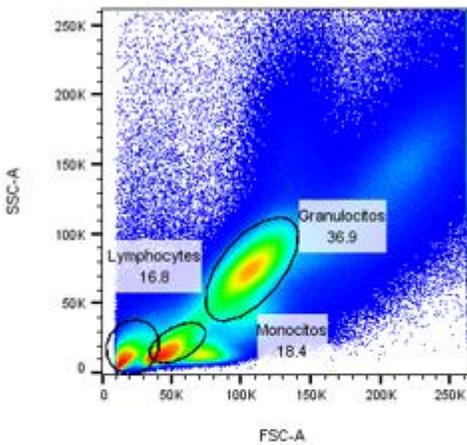
PACIENTE 15



·# Celular → 3, 618, 350
 Linf → 277, 837
 Statistic → 7.68

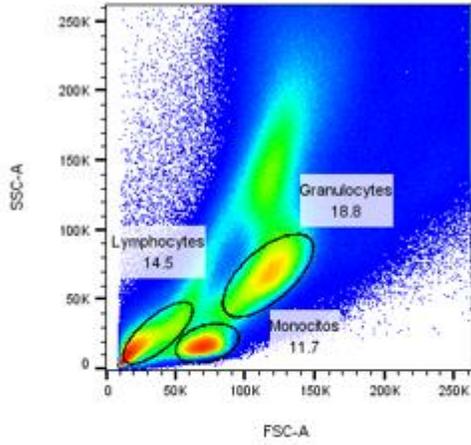
·# Celular → 3, 251, 625
 Linf → 292, 762
 Statistic → 9

PACIENTE 16

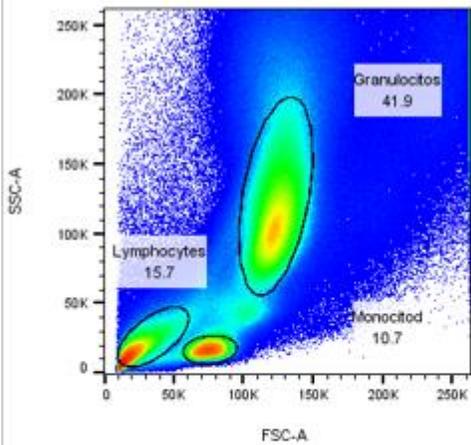


·# Celular → 3,776,500
 Linf → 562, 308
 Statistic → 14.9

PACIENTE 17



Cellular → 3,265,650
Linf → 473,784
Statistic → 14.5



Cellular → 3,259,500
Linf → 511,909
Statistic → 15.7