



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROPUESTA PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UNA SEROTECA
PARA EL PROTOCOLO DE TRASPLANTE RENAL DE DONADOR
FALLECIDO DE LA UMAE HE CMN SXXI**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

JONATHAN MICHEL VILCHIS VILLA



MÉXICO, CDMX

2016



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** **Mónica Berenice Heras Chavarría**

VOCAL: **Profesor:** **Julio César Martínez Álvarez**

SECRETARIO: **Profesor:** **Gibrán Pérez Montesinos**

1er. SUPLENTE: **Profesor:** **Gustavo Olvera García**

2° SUPLENTE: **Profesor:** **Octavio Castro Escamilla**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE HLA, BANCO CENTRAL DE SANGRE, UMAE HE CMN SIGLO XXI

ASESOR DEL TEMA:

EBC Julio César Martínez Álvarez

SUSTENTANTE (S):

Jonathan Michel Vilchis Villa

Índice

Índice de Figuras	5
Índice de Tablas	6
Abreviaturas	7
Introducción	9
Marco teórico	11
Enfermedad Renal Crónica	11
Diagnóstico y clasificación	13
Alternativas de Tratamiento	15
Trasplante en México	17
Tipo de donación	19
Donador vivo	19
Donador fallecido	20
Proceso de Trasplante	23
Personas que requieren un trasplante en México	25
Criterios de ingreso de pacientes a la lista de espera de donador fallecido	26
Distribución y Asignación de Órganos y Tejidos. Criterios de asignación de riñón para pacientes en lista de espera de donador fallecido	27
Manejo de las Listas de espera del CMN SXXI	31
Estadísticas del Trasplante renal en nuestro país	34
Estadísticas mundiales del Trasplante renal	35
Inmunología del Trasplante y Rechazo	39
Antígenos del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC)	39
Grupos CREG	40
Presentación de aloantígenos	41
Presentación directa de aloantígenos	42
Presentación indirecta de aloantígenos	43
Desarrollo de la respuesta celular y humoral	44
Cambio de isotipos de IgM a IgG	47
Fases del Rechazo	48
Rechazo hiperagudo	48
Rechazo agudo	48
Rechazo crónico	49
Eventos aloinmunizantes	50
Pruebas inmunológicas del binomio donador-receptor de trasplante renal	52
Tipificación HLA	53

Prueba Cruzada	55
Detección de anticuerpos anti-HLA. %PRA	56
Seguimiento Postrasplante	58
Seroteca. Definición y función	59
Justificación y planteamiento del problema	61
Objetivo	61
Objetivo general	61
Objetivos particulares	61
Materiales y Métodos	62
Criterios de inclusión	62
Criterios de No Inclusión	62
Procedimiento	63
Procedencia del material biológico	63
Manejo de la muestra	63
Condiciones de almacenamiento	63
Descripción general del estudio	64
Propuesta de la Cédula de Identificación para la Seroteca de la Lista de Espera de Donador Fallecido	
Donador Fallecido	66
Discusión	68
Conclusión	71
Perspectivas	72
Referencias bibliográficas	73
ANEXO1. Indicaciones de toma de muestra de Donador cadavérico	76
ANEXO 2. Técnica de Panel Reactivo de Anticuerpos (%PRA)	77
ANEXA 3. Técnica para la extracción de sangre venosa	79
ANEXO 4. Tipificación de HLA	80
ANEXO 5. Carta de consentimiento informado	82

Índice de Figuras

Figura 1. Clasificación de donadores fallecidos	22
Figura 2. Gráfica de número de trasplantes renales realizados de 1963-2015 por tipo de donante.	34
Figura 3. Gráfica de número de trasplantes renales de donador fallecido realizados por entidad. 2015.	34
Figura 4. Los 50 países más activos en materia de trasplante de órganos sólidos. Relación de total de órganos trasplantados, en relación con millón de habitantes por país. 2013.	35
Figura 5. Actividad global de Trasplantes renales, en relación a millones de habitantes. 2013.	36
Figura 6. Actividad de Trasplantes renales provenientes de donador fallecido en Latinoamérica, en relación a millones de habitantes. 2014.	37
Figura 7. Relación aditiva de Trasplantes renales provenientes de donador vivo y donador fallecido de los países con mayor actividad, en relación a millones de habitantes. 2013.	38
Figura 8. Relación de Trasplantes renales provenientes de donador vivo y donador fallecido de los países con mayor actividad, en relación a millones de habitantes. 2013.	38
Figura 9. Presentación Directa (a) y Presentación Indirecta (b) de aloantígenos.	44
Figura 10. Respuesta celular y humoral frente al aloinjerto.	47
Figura 11. Algoritmo para valorar el riesgo inmunológico en trasplante de donador fallecido.	65
Figura 12. Cédula de Identificación para la Seroteca de la Lista de espera de Donador Fallecido.	66

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación de Enfermedad Renal Crónica.	14
Tabla 2. Plan de acción clínica en los distintos estadios de Enfermedad Renal Crónica.	15
Tabla 3. Cifras de pacientes en lista de espera por grupo sanguíneo AB0, en el CMN SXII. Enero 2016	33
Tabla 4. Compatibilidad según el grupo sanguíneo.	52
Tabla 5. Escenarios clínicos según pruebas inmunológicas.	57

Abreviaturas

ADE	Anticuerpos Donador Especifico
ALT	Alanina aminotrasnferasa
AST	Aspartato aminotrasferasa
AZA	Azatropin
BAAR	Bacilo Ácido-Alcohol Resistente
CD	Cluster of Differentiation
CEETRAS	Centros Estatales de Trasplantes
CENATRA	Centro Nacional de Trasplantes
CMN SXXI	Centro Médico Nacional Siglo XXI
CMV	Virus del Citomegalovirus
CPA o APC	Células Presentadoras de Antígenos
CREG	Grupos Reactivos cruzados (<i>Cross-Reactive Groups</i>)
CsA	Cliclosporina
COETRAS	Consejos Estatales de Trasplantes
DBD	Muerte encefálica (<i>Donation after Brain Death</i>)
DCD	Muerte por paro cardiorrespiratorio (<i>Donation after Cardiac Death</i>)
DTT	Dithiothreitol
ECD	Donador de Criterios Expandidos (<i>Expanded Criteria Donor</i>)
EKG	Electrocardiograma
ELISA	Ensayo por Inmunoadsorción de Enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FEV	Fracción de Eyección Ventricular
FG	Filtrado Glomerular
FK	Tracolimus
GODT	Observatorio Global de Donación y Trasplante
HA	Hipertensión Arterial
HLA	Antígeno Leucocitario Humano (<i>Human Leukocyte Antigen</i>)
Ig	Inmunoglobulina
IL-2	Interleucina 2
IMC	Índice de Masa Corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubiran”
INF-γ	Interferón γ
IRT	Insuficiencia Renal Terminal
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado
IVIG	Inmunoglobulina Intravenosa

KDPI/KDRI	Kidney Donor Profile Index/Kidney Donor Risk Index
K/DOQI	<i>Kidney Disease Outcomes Quality Initiative</i>
LGS	Ley General de Salud
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
MFI	Intensidad de Fluorescencia Media
MHC	Complejo Principal de Histocompatibilidad (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)
MICA	<i>MHC class I polypeptide-related sequence A</i>
MMF	Micofenolato de Mofetilo
NK	Células Asesinas Naturales (<i>Natural Killer</i>)
OPTN	Red de Procuración y Trasplante de Órganos
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PCR-SBT	Reacción en Cadena de la Polimerasa por tipificación basada en secuenciación
PCR-SSO	Reacción en Cadena de la Polimerasa por oligonucleótidos de secuencia específica
PCR-SSP	Reacción en Cadena de la Polimerasa por Iniciadores de secuencia específica
PD	Potencial Donador
PEMEX	Petróleos Mexicanos
PR	Potenciales receptores
PRM	Problemas relacionados a medicamentos
RAPA	Rapamicina
RFLP	<i>(Restriction Fragment Length Polymorphism)</i>
Rh	Factor Rh
RMA	Rechazo Mediado por Anticuerpos
RNT	Registro Nacional de Trasplantes
SAPE	R- Ficoeritrina conjugada con estreptavidina
SEDENA	Secretaria de la Defensa Nacional
SOM	Serie Ósea Metabólica
SSA	Secretaria de Salud
TCR	Receptor de las Células T
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral α
SCD	Donador de Criterios Estándar (<i>Standard Criteria Donor</i>)
UMAE-HE	Unidad Médica de Alta Especialidad-Hospital de Especialidades
VFG	Velocidad de Filtrado Glomerular
VHB	Virus de la Hepatitis B
VHC	Virus de la Hepatitis C
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VDLR	Prueba serológica para Sífilis (<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>)
%PRA	Porcentaje del Panel Reactivo de Anticuerpos

Resumen.

El proceso de trasplante inicia cuando el médico diagnostica un padecimiento que ha afectado gravemente un órgano o tejido específico de un paciente, quien es enviado al especialista que corresponda para determinar si existen razones médicas para que el problema pudiera ser tratado mediante un trasplante. Los casos más frecuentes son la insuficiencia renal crónica, algunos tipos de insuficiencia cardíaca, padecimientos que afectan la forma y transparencia de las córneas en los ojos, y en otros casos insuficiencia en el hígado o pulmón, etc. ⁽¹⁾.

El trasplante de riñón se volvió una realidad en 1960 gracias a inmunosupresores como lo es la azatioprina y prednisona. Diversos factores han contribuido a que exista una mayor sobrevida del injerto entre ellos es la creación de nuevos inmunosupresores y tratamientos antirechazo. Otros puntos importantes son el manejo del paciente; mejor conservación de los órganos; y el uso de procedimientos de prueba cruzada más sensibles y específicos.

Para asignar un órgano o tejido de donador fallecido, el comité interno de trasplante se rige por lo establecido en la ley general de salud:

“Art. 336: se toma en cuenta la gravedad del receptor, la oportunidad del trasplante, beneficios esperados, compatibilidad y demás criterios médicos, así como la ubicación hospitalaria.”

En el trasplante son tres las estrategias principales para maximizar el éxito del trasplante: la tipificación de HLA, la detección de anticuerpos anti-HLA y la prueba cruzada son usadas para detectar y minimizar la posible incompatibilidad del receptor con el donador, y así disminuir la respuesta de rechazo total.

El tiempo con el que se cuenta desde que se confirma la muerte cerebral hasta que empieza el trasplante renal suele ser poco, de 24 a 36 horas. Este es el tiempo en el que se solicitan los permisos requeridos y las pruebas de laboratorio.

Para el ingreso de los pacientes en el Registro Nacional de Trasplantes es necesario realizar diversos estudios, entre ellos la tipificación del HLA, por lo que durante una alarma de donador fallecido quedan por realizarse, entre otros estudios necesarios para la cirugía, la detección de anticuerpos anti-HLA y la prueba cruzada, ésta última considerada el estándar para proceder o descartar la realización del trasplante renal.

Para el trasplante renal, la seroteca es una colección de sueros de los pacientes en espera de un riñón que se archivan y resguardan bajo condiciones de bioseguridad y temperatura adecuadas para conservar sus características bioquímicas e inmunológicas, en un espacio que cuenta con congeladores, para realizar las determinaciones necesarias previas al trasplante, o para repetir valoraciones sobre el estado inmunológico de los pacientes que ayuden a guiar el tratamiento a recibir. Entre los países que cuentan con una seroteca se pueden mencionar España, Estados Unidos, además de Chile, Uruguay y Argentina, entre otros. Estos países son reconocidos por tener altos índices de trasplantes renales con injertos provenientes de donadores fallecidos.

Es por esto, que en esta tesis se propone la implementación de una seroteca, con la finalidad de optimizar o reducir los tiempos de respuesta por parte del laboratorio.

Marco Teórico.

Enfermedad Renal Crónica

La enfermedad renal crónica (ERC) es un proceso fisiopatológico con múltiples causas, definida como una disminución de la función renal, expresada por una velocidad de filtrado glomerular (VFG) o filtrado glomerular (FG) $< 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$, o como presencia de daño renal persistente durante al menos 3 meses ⁽²⁾; tiene como consecuencia la pérdida inexorable del número y funcionamiento de nefronas, y a menudo ésta desemboca en la insuficiencia renal terminal (IRT). A su vez, la IRT es un estado clínico en el que se ha producido la pérdida irreversible de la función renal endógena, de una magnitud suficiente como para que el paciente dependa de forma permanente del tratamiento sustitutivo renal (diálisis o trasplante) con el fin de evitar la uremia, que pone en peligro la vida. En México, como en la mayor parte del mundo, se muestra un incremento importante en la prevalencia e incidencia de la enfermedad renal crónica, que afecta aproximadamente al 10% de la población adulta a nivel mundial. Se estima una incidencia de pacientes con ERC de 377 casos por millón de habitantes, y una prevalencia de 1,142 ⁽³⁾.

Muchos pacientes se presentan en una fase avanzada de la ERC, que impide determinar de forma concluyente su causa. Algunos factores de susceptibilidad a daño renal son la mayoría de edad, la historia familiar de enfermedad renal, bajo peso de nacimiento y reducción de masa renal, entre otros. Aunque la glomerulonefritis era la primera causa de ERC, en la actualidad son causas mucho más frecuentes la nefropatía diabética y la hipertensión ⁽³⁾. Otros factores que pueden iniciar el daño son las enfermedades autoinmunes, las infecciones sistémicas, infección del tracto urinario, cálculos urinarios, obstrucción del tracto urinario y la toxicidad a drogas.

Entre los factores que empeoran el daño renal y declinan rápidamente la función renal se encuentran la proteinuria, la hipertensión arterial, un control pobre de la glicemia en la diabetes, anemia, dislipidemia, enfermedad cardiovascular asociada y tabaquismo ⁽²⁾.

La fisiopatología de la ERC implica mecanismos iniciadores específicos a la causa, y mecanismos progresivos consecuencia de la disminución de masa renal, con independencia de la etiología. La fase más temprana común en todas las formas de ERC es una pérdida de reserva renal. Durante esta fase, el filtrado glomerular puede ser normal o elevado (90-120 mL/min/1.73 m²). Los únicos indicios en esta fase pueden ser mediciones de laboratorio que determinan el filtrado glomerular (FG); los más empleados son las concentraciones de urea y creatinina séricas. Cuando la urea y la creatinina séricas están incluso ligeramente elevados, ya se ha producido una lesión nefronal crónica importante.

Cuando el FG disminuye a niveles tan bajos como 30% del normal, los pacientes pueden permanecer asintomáticos, con solamente aumento de urea y creatinina séricas. Por otra parte, un análisis cuidadoso suele revelar manifestaciones clínicas y analíticas adicionales de IRC como nicturia, ligera anemia y pérdida de energía, inapetencia y alteraciones precoces de la nutrición, así como anomalías en el metabolismo del calcio y el fósforo.

Cuando el FG disminuye por debajo del 30% del normal, sobrevienen manifestaciones clínicas y bioquímicas de uremia en número e intensidad crecientes. Procesos a los que los pacientes con ERC pueden ser especialmente sensibles son las infecciones (urinarias, respiratorias o digestivas), la hipertensión mal controlada, la hipervolemia o hipovolemia y la nefrotoxicidad debida a contrastes radiológicos, entre otros.

Cuando el FG desciende por debajo del 5 – 10 % del normal (IRT), resulta imposible la supervivencia sin tratamiento sustitutivo renal ⁽⁴⁾.

Diagnóstico y clasificación

El diagnóstico precoz de la ERC en estadios 1 y 2 resulta fundamental para la posible prevención de la pérdida de función renal y de las complicaciones cardiovasculares. Se basa en la realización de las pruebas complementarias básicas para establecer el diagnóstico y el estadio de la ERC independientemente de la causa. Las exploraciones complementarias básicas son tres: 1) determinación de la creatinina sérica y la correspondiente estimación del FG o del aclaramiento de creatinina mediante una fórmula, 2) determinación del índice albúmina/creatinina en una muestra aislada de orina, y 3) análisis del sedimento urinario mediante una tira reactiva o la técnica clásica de microscopía óptica. Estas exploraciones complementarias deben realizarse en todos los casos en que exista un riesgo aumentado de ERC ⁽²⁾.

Una VFG <60 ml/min/1,73 m² por sí sola define ERC, porque implica la pérdida de al menos la mitad de la función renal, lo que ya se asocia a complicaciones.

Si VFG es mayor o igual a 60 ml/min/1,73 m², el diagnóstico de ERC se establece mediante evidencias de daño renal, que puede ser definido por:

- Alteraciones urinarias (albuminuria, microhematuria)
- Anormalidades estructurales (por ej: imágenes renales anormales)
- Enfermedad renal genética (riñones poliquísticos)
- Enfermedad renal probada histológicamente

El requerimiento de un período mínimo de 3 meses en la definición de ERC implica que las alteraciones deben ser persistentes y habitualmente serán progresivas.

En el año 2002, la *National Kidney Foundation* estadounidense publicó a través del proyecto K/DOQI (*Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*) una serie de guías de práctica clínica sobre la evaluación, clasificación y estratificación de la ERC. Esta clasificación, simple y fácil de usar, divide la ERC en 5 etapas, de acuerdo a la VFG estimada con ecuaciones de predicción (Cockcroft-Gault ó MDRD [*Modification of Diet in Renal Disease*]) ^(5, 6). Basándose en datos del estudio MDRD se han desarrollado varias ecuaciones que predicen el FG a partir de una combinación de variables demográficas (edad, sexo, raza) y bioquímicas (creatinina, albúmina, nitrógeno ureico en sangre y orina) verificadas en un gran número de pacientes, con características diversas y diversos grados de insuficiencia renal, aunque no en pacientes sin enfermedad renal. De este estudio, Levey et al. desarrollaron una fórmula abreviada para estimar el FG que precisa la edad, la raza, el sexo y la creatinina plasmática ⁽⁶⁾:

$$\text{FG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 186 \times [\text{Creatinina plasmática (mg/dl)}]^{-1,154} \times (\text{Edad})^{-0,203} \times (0,742 \text{ si mujer}) \times (1,212 \text{ si raza negra})$$

Tabla 1. Clasificación de Enfermedad Renal Crónica.

Etapa de ERC	Descripción	VFG (mL/min/1.73 m ²)
-	Riesgo aumentado de ERC	≥ 60
1	Daño renal con FG normal	≥90
2	Daño renal con FG ligeramente disminuido	60-89
3	FG moderadamente disminuido	30-59
4	FG gravemente disminuido	15-29
5	Fallo renal	<15 (o diálisis)

Alternativas de Tratamiento

Si la ERC y sus factores de riesgo no son detectados, se pierden oportunidades únicas de prevención y tratamiento. La histórica carencia de una definición y clasificación universal de ERC explica en parte esta negligencia preventiva. Una nueva definición y sistema de clasificación de ERC, basada en la evaluación del daño y la función renal, propuesta desde el año 2002, ha tenido amplia aceptación en la comunidad nefrológica mundial. El resultado ha sido la simplificación en la identificación de pacientes con ERC, posibilitando un mejor manejo con el fin de aminorar el riesgo cardiovascular y la progresión renal.

Tabla 2. Plan de acción clínica en los distintos estadios de Enfermedad Renal Crónica.

Etapa	VFG (ml/min/1,73 m²)	Plan de acción
-	>60 (sin daño renal)	Manejo adecuado de cada situación de riesgo para prevenir la enfermedad renal (Diabetes, HA)
1	>90 (con daño renal)	Diagnóstico y tratamiento adecuado a cada causa; tratamiento de las condiciones comórbidas; tratamiento para frenar la progresión de la enfermedad renal. Prevención cardiovascular
2	60-89 (con daño renal)	Igual que el anterior y estimación de la progresión de la enfermedad renal.
3	30-59	Igual que el anterior. Evaluación y tratamiento de las complicaciones de la enfermedad renal crónica. Prevención cardiovascular
4	15-29	Igual que el anterior. Preparación, si procede, del tratamiento renal sustitutivo
5	<15 (o diálisis)	Tratamiento renal sustitutivo si procede y prevención cardiovascular

A todos los enfermos con indicaciones de trasplante se les debe buscar un donador vivo relacionado o no relacionado, o si no hay contraindicaciones inscribirlo a la lista de espera nacional de donación cadavérica. Mientras no se efectúe el trasplante, los enfermos tendrán que estar en programa de diálisis peritoneal o hemodiálisis ⁽⁷⁾:

- a) Hemodiálisis: tres sesiones a la semana, de tres a cuatro horas de duración.
- b) Diálisis peritoneal continua ambulatoria: 8 litros diarios, siete días a la semana.
- c) Diálisis continúa cíclica o automática, con el esquema prescrito por el nefrólogo respecto a litros, ciclos y número de días de tratamiento.

A lo largo de los últimos 40 años el tratamiento sustitutivo renal con la diálisis y el trasplante ha prolongado la vida de cientos de miles de pacientes con IRT. El tratamiento sustitutivo renal no debe iniciar cuando el paciente está totalmente asintomático; sin embargo, la diálisis o el trasplante deben iniciar de forma lo suficientemente pronto para evitar las complicaciones graves del estado urémico. Son indicaciones claras para iniciar el tratamiento la pericarditis, la neuropatía progresiva atribuible a uremia, la encefalopatía, la irritabilidad muscular, la anorexia y las náuseas que no mejoran con una restricción proteica razonable, y los trastornos hidroelectrolíticos resistentes a medidas conservadoras. Entre estos últimos se cuenta la sobrecarga de volumen que no responde a diuréticos, la hiperpotasemia resistente a restricción de potasio en la dieta, hipercalcemia, anemia crónica por debajo de 8 g de hemoglobina por decilitro y la acidosis metabólica progresiva que no puede tratarse con álcalis, una o dos de estas complicaciones o ante edema pulmonar agudo. Son indicios clínicos de desarrollo inminente de complicaciones urémicas los antecedentes de hipo, prurito intratable, náuseas y vómitos matutinos, las contracciones y los calambres musculares, y la presencia de asterixis en la exploración física. Se estima que existen alrededor de 52, 000 de pacientes en terapia sustitutiva, de los cuales el 80% se atiende en el IMSS ⁽³⁾.

Trasplante en México

La demanda de una creciente población de profesionales involucrados al respecto, en instituciones y organizaciones públicas, privadas y no gubernamentales, dio como resultado que en 1999 quedara conformado el Consejo Nacional de Trasplantes, y un año después, el Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA). El Centro Nacional de Trasplantes es el órgano responsable de impulsar y coordinar los procesos desde la donación hasta el trasplante de órganos, tejidos y células, desarrollando el marco regulatorio para favorecer el desempeño de los integrantes del Subsistema Nacional de Donación y Trasplantes, otorgando a los pacientes que así lo requieran una mayor oportunidad, con legalidad y seguridad. Una de sus áreas, la Dirección del Registro Nacional de Trasplantes, se encarga de administrar el sistema informático que concentra los datos de la actividad de los hospitales de todo el país en materia de trasplantes y donaciones, actualiza las estadísticas nacionales, y analiza la información para estructurar propuestas y estrategias de mejora en el Sistema Nacional de Trasplantes. En cumplimiento con lo que establece la Ley, el CENATRA, vinculado con los Centros Estatales de Trasplantes (CEETRAS), los Consejos Estatales de Trasplantes (COETRAS) y las Coordinaciones Institucionales, conforman un Sistema que favorece los mecanismos de donación.

Las instituciones hospitalarias, públicas y privadas han mostrado gran interés en compartir los avances técnicos y médicos en el proceso de donación y trasplantes, por lo que se han desarrollado organizaciones institucionales que agrupan a los coordinadores de donación de cada una de las instituciones más importantes en el sector. Así por ejemplo, se tienen coordinaciones institucionales en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE), Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA), Petróleos Mexicanos (PEMEX), Secretaría de Salud (SSA) y hospitales privados.

El CENATRA se ha comprometido a dar cumplimiento a la normatividad establecida en la Ley General de Salud en particular con el artículo 338 de la misma, donde se establece que “el CENATRA tendrá a su cargo el Registro Nacional de Trasplantes (RNT)”, el cual asume la tarea de compilar y actualizar:

1. Datos de los receptores, donadores, fechas de trasplante, su realización y evolución,
2. Establecimientos autorizados,
3. Profesionales que intervengan en esta disciplina,
4. Listas de espera, y
5. Casos de muerte cerebral.

En México se hacen trasplantes desde 1963 y se han realizado alrededor de 40 mil. Existen más de 400 hospitales distribuidos en todo el sector salud (sociales, públicos y privados) que llevan a cabo diferentes tipos de trasplante ⁽⁸⁾. Para que un hospital pueda realizar trasplantes se requiere que tenga un permiso otorgado por la Secretaría de Salud para esa actividad, además de contar con el personal médico capacitado e identificado. Los programas de trasplante de órgano sólido que se presentan en mayor número son el de riñón, seguido por el de córnea, hígado y corazón, respectivamente. Concerniente a los trasplantes de riñón, estos se llevan a cabo en 24 estados de la Republica ⁽⁹⁾.

El trasplante de riñón se volvió una realidad en 1960 gracias a inmunosupresores como lo es la azatioprina y prednisona. La Ciclosporina A, que fue introducida como inmunosupresor en los 80s, incremento la vida del injerto en un 15% y mostró ser más efectivo en pacientes que reciben trasplantes no renales.

Diversos factores han contribuido a que actualmente exista una mayor sobrevivencia del injerto, entre ellos están la mejora de la detección de anticuerpos mediante antígenos HLA purificados, la creación de nuevos inmunosupresores y tratamientos en caso de rechazo, además de la alternativa de plasmaféresis pre y post trasplante. Otros puntos importantes son el manejo del paciente; mejor conservación; y el uso de procedimientos de prueba cruzada más sensibles y específicos.

Tipo de donación:

Los órganos y tejidos para trasplante pueden tener dos orígenes:

- De un donador vivo se pueden obtener: un riñón, un segmento o lóbulo del hígado, un segmento o lóbulo de pulmón, sangre o precursores de la misma.
- De un donador que ha perdido la vida, dependiendo de las circunstancias de su muerte, se pueden obtener órganos y tejidos. En caso de paro cardiaco se pueden obtener únicamente tejidos como las córneas y en algunos casos hueso y válvulas del corazón. En caso de muerte encefálica se pueden obtener además de los tejidos mencionados, los siguientes órganos: corazón, ambos pulmones, ambos riñones e hígado ⁽⁸⁾.

Donador vivo

El donador vivo se trata generalmente de un familiar genéticamente relacionado o no relacionado, el cual se selecciona por su compatibilidad HLA. El seguimiento que tiene el donador es riguroso y es sometido a estudios radiológicos y de serología. Se excluyen como donadores a personas que tengan altas probabilidades de desarrollar hipertensión arterial o enfermedad renal en un futuro.

La existencia de donadores vivos otorgan los siguientes beneficios al receptor:

1. Reduce el riesgo de insuficiencia renal aguda como consecuencia de una disminución en el tiempo de isquemia.
2. Mayor probabilidad de compatibilidad HLA lo que se traduce en la disminución del tratamiento inmunosupresor y las consecuencias del mismo.
3. Reducción del tiempo que el paciente permanece en lista de espera.
4. Se ve incrementada la sobrevida del órgano, el cual puede superar incluso los 20 años.

Donador fallecido

Tipos de muerte:

- Muerte paro cardio-respiratoria
- Muerte encefálica

Muerte por paro cardio-respiratorio. (DCD; *Donation after Cardiac Death*):

La donación después de la muerte por paro cardíaco se refiere para los donantes que no cumplen con los criterios de muerte cerebral, pero en los que se produjo un cese de función cardíaca antes de que se adquirieran los órganos. Este cese pudo ocurrir de forma espontánea o haberse iniciado deliberadamente. Pueden definirse 2 subgrupos, según la manera en que se produjo el paro cardíaco, la DCD controlada y no controlada.

Se define por la Red de Procuración y Trasplante de Órganos (*Organ Procurement and Transplantation Network*, OPTN) un donador de DCD controlada como el donante cuyo soporte de vida será retirado y cuya familia ha dado su consentimiento para la donación de órganos en el ambiente de una sala de operaciones. Describe entonces a un donador con funciones hemodinámicas y respiratorias mantenidas de manera estable hasta que se desentuba en un ambiente controlado. Por tanto, también podría definirse como un donador de muerte cerebral.

Por otra parte, se define al donador de DCD no controlada al candidato que expira en la sala de urgencias o en otro lugar del hospital antes de obtener el consentimiento de donación de órganos y al cual se le colocan catéteres en la arteria femoral y en peritoneo para enfriar los órganos hasta obtener el consentimiento. También define al candidato del que se obtuvo consentimiento de donación, pero sufre paro cardíaco que requiere reanimación cardio-pulmonar (RCP) durante la procuración de órganos.

La muerte comienza a partir del paro cardíaco; si el latido no se restaura, las células y tejidos mueren. En México, los donadores de DCD no son recibidos para realizar un trasplante renal. De ellos únicamente se pueden trasplantar córneas y válvulas cardíacas.

Muerte encefálica (DBD; *Donation after Brain Death*):

La muerte cerebral es un proceso que inicia con la abolición de toda función cerebral. El buen mantenimiento hemodinámico del donante es fundamental para el buen estado posterior del órgano extraído. Por lo tanto, un donador de muerte encefálica o DBD describe al donador que tiene muerte cerebral primaria y que mantiene intactas la circulación cardíaca y la respiración, o que se mantienen por medidas médicas como ventilación mecánica, drogas, bomba intraaórtica o una máquina de oxigenación extracorpórea. El diagnóstico de muerte consiste en verificar la ausencia de función cerebral mediante un electroencefalograma plano. El diagnóstico debe ser realizado por 2 médicos, al menos uno de ellos, neurólogo o neurocirujano. Un donador de DBD puede ser un Donador de Criterios Estándar (*Standard Criteria Donor*, SCD) o un Donador de Criterios Expandidos (*Expanded Criteria Donor*, ECD) (Figura 1). El clásico donador de criterios estándar es aquel de 35 años de edad sin historial de hipertensión o diabetes, y cuya causa de muerte es un accidente automovilístico. El donador de criterios expandidos es aquel que al momento de la muerte tiene ≥ 60 años de edad, o entre 50-59 años y tiene dos de los siguientes criterios: 1) la causa de la muerte es accidente cerebrovascular; 2) historial preexistente de hipertensión sistémica; y 3) Creatinina sérica terminal >1.5 mg/dL. Los criterios de esta definición se basan en la presencia de variables que incrementan el riesgo de falla del injerto en un 70% en comparación con un riñón de donador SCD. En la práctica, todos los pacientes que no cumplen con criterios expandidos y cuya donación ocurrió después de la muerte cerebral son considerados SCD.

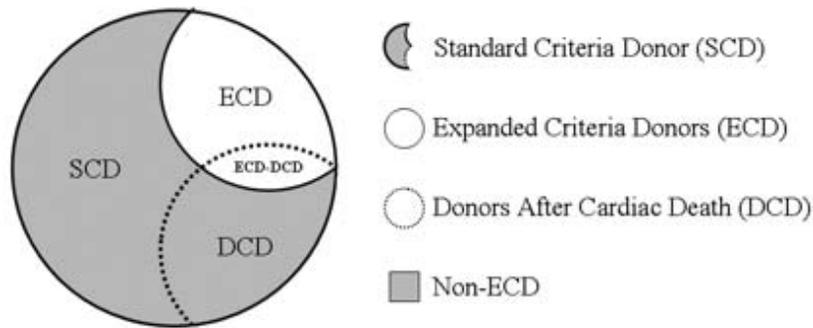


Figura 1. Clasificación de donadores fallecidos; según se trate de donador de criterios estándar (SCD, Gris) o de criterios expandidos (ECD, Blanco). Donador por muerte encefálica (Media luna gris-blanca) o por muerte cardiopulmonar (Región punteada).

No todos los pacientes que mueren en un hospital en situación de muerte cerebral pueden llegar a ser donadores. Los donadores de órganos tienen unas características especiales como son ^(10, 11):

- Edad
- Causa de muerte bien conocida
- Coma.
- Descartar diagnóstico diferencial de muerte cerebral.
- Ausencia de todos los reflejos de tallo y prueba de apnea positiva.
- Ausencia de enfermedades transmisibles así como aquellas que afectan al órgano a trasplantar.

En el caso de donante cadavérico o de un donante no relacionado genéticamente no es posible identificar haplotipos idénticos y se habla de *match* o compatibilidad de determinantes antigénicos individuales. En trasplante clínico los más estudiados e importantes son los antígenos A, B y DR, pudiendo existir una compatibilidad perfecta de seis *match* (rara), de diferentes grados o de nula compatibilidad.

Proceso de Trasplante:

Iniciando con los potenciales receptores, se siguen los siguientes pasos:

1. Cuando se diagnostica un padecimiento que ha afectado gravemente un órgano. Los casos más frecuentes son: **Insuficiencia Renal Crónica**, Insuficiencia Cardíaca, forma y transparencia de las corneas, Insuficiencia Hepática o Insuficiencia Pulmonar.
2. Se hace un protocolo de evaluación: un especialista solicita exámenes médicos que determinan las condiciones específicas del paciente, evaluando las razones por las que el problema deba ser tratado mediante trasplante y la utilidad o no del trasplante.
3. Casos aceptados son llevados a comité.
4. Una vez aceptado en el programa, en el hospital deberán ingresar los datos del paciente en la base de datos del CENATRA y recibirá de su médico un comprobante del ingreso de sus datos.

Los pasos establecidos y fundamentales en cada proceso de donación y trasplante de donador fallecido son ⁽⁹⁾:

1. Se recibe llamada telefónica en donde se informa la existencia de un Potencial Donador (PD).
2. Captura de datos generales y médicos del PD en la cédula correspondiente para realizar la búsqueda de Potenciales Receptores (PR) inscritos en la Lista Nacional de Espera, tomando en consideración las características y datos del PD.
3. Se mantiene contacto entre el CENATRA y los COETRAS y/o responsables de los programas de trasplantes, poniendo a disposición los órganos y/ o tejidos donados.

4. El Módulo coordina la logística de traslado de equipos quirúrgicos y órganos a trasplantar y, a su vez, establece la hora tentativa de procuración conveniente a los diferentes grupos de trasplantes, dando así tiempo para que preparen de una manera efectiva a sus receptores y asegurar el éxito del tratamiento.
5. De ser necesario, se solicita y brinda apoyo aéreo según el convenio establecido con las aerolíneas.
6. Si el proceso comprende un caso médico-legal que pueda interferir en la donación y tiempos contemplados para la procuración, se establece enlace con el Ministerio Público a cargo del caso para agilizar dicho trámite.
7. Cuando se realiza la asignación de órganos y/o tejidos, se coteja, entre otros criterios establecidos en la Ley General de Salud, el orden en la Lista Nacional de Espera.
8. Se da seguimiento clínico a los pacientes trasplantados.

Los Propósitos del Registro Nacional de Trasplante:

- Conocer el número de pacientes que requieren trasplante
- Enfermedades que se resuelven mediante esta terapia.
- Cuales con mayor frecuencia.
- Instituciones con mayor demanda.
- Gestión de recursos.

Personas que requieren un trasplante en México

Al día de hoy existen 20,320 pacientes, distribuidos de la siguiente manera:

Riñón (12, 385)	Riñón-páncreas (9)
Córnea (7, 456)	Páncreas (11)
Hígado (397)	Corazón-pulmón (1)
Corazón (59)	Hígado-riñón (2)

Trasplantes realizados durante 2015:

3, 475 Trasplantes de córnea	38 Trasplantes de corazón
2, 756 Trasplantes de riñón	1 Trasplante de páncreas
152 Trasplantes de hígado	

Fuente: Registro Nacional de Trasplantes, CENATRA, 2015.

El órgano que más se requiere para trasplante es el riñón, seguido de córnea, mientras que el número de pacientes que requieren trasplantes de hígado, corazón y pulmón es mucho menor. En el caso del riñón y córnea el tiempo promedio de la lista de espera es entre 24 y 30 meses. En el caso de hígado y corazón los tiempos de espera pueden ser mucho más largos ⁽⁸⁾.

Criterios de ingreso de pacientes a la lista de espera de donador fallecido

Los pacientes que no cuentan con un donador vivo se podrán considerar para trasplante de donador cadavérico o fallecido. Los requisitos para ingreso a la lista de espera son:

Evaluación por Nefrología

Evaluación por Psiquiatría

Evaluación por Cardiología

Determinación de %PRA

Una vez que se tenga las evaluaciones anteriores, un médico del Área de Nefrología evaluará el caso y determinará si existen evaluaciones complementarias necesarias o contraindicaciones médicas. Previo al ingreso a lista de espera, el paciente deberá tener evaluación por parte del Trabajo Social de Trasplantes, donde se determinará si el paciente puede tener acceso al esquema de inmunosupresión y desensibilización que se considere adecuado, con base en su riesgo inmunológico. En caso de pacientes en segundo trasplante, podrán ingresar a lista de espera cuando la VFG por MDRD o fórmula equivalente sea menor o igual a 15 ml/min.

El paciente tiene que reunir unos requisitos mínimos previo al trasplante, que se realizan durante la procuración del órgano ⁽¹²⁾:

- No presentar ninguna contraindicación para el trasplante renal (neoplasias, infecciones).
- Tener un estudio quirúrgico pretrasplante realizado en informado como “sin contraindicaciones de técnica quirúrgica” ($IMC > 35 \text{ kg/m}^2$).
- Seguimiento adecuado de anticuerpos citotóxicos, contando con al menos: Durante la tipificación; dos semanas después de cada transfusión; y por rutina: si las determinaciones son negativas y no se trasfunde, se realizarán 1 o 2 al año, si existen anticuerpos preformados, se realizarán trimestrales.
- Estudios de anticuerpos contra VIH y CMV.
- Consentimiento del paciente.

Pacientes inactivos:

Los pacientes en lista de espera y que desarrollen alguna condición que contraindique temporalmente el trasplante por un periodo mayor a 6 meses, se inactivarán, agregando en el expediente una nota firmada por dos miembros del comité de trasplante, donde se especifique el motivo de la inactividad y los requisitos para la reactivación. El paciente conservará su posición en la lista de espera al resolverse el problema responsable de la inactivación ⁽¹¹⁾.

Distribución y Asignación de Órganos y Tejidos. Criterios de asignación de riñón para pacientes en lista de espera de donador fallecido ^(8, 13)

Debido a que la demanda de órganos es mayor a los que hay disponibles, el objetivo fundamental de la distribución de órganos debe ser seleccionar dentro de la lista de espera al paciente más idóneo para recibir el órgano.

Para asignar un órgano o tejido, el comité interno de trasplante se rige por lo establecido en la Ley General de Salud:

Art. 336: Para la donación de órganos y tejido de donador no vivo, se tomará en cuenta la gravedad del receptor, la oportunidad del trasplante, los beneficios esperados, la compatibilidad con el receptor y demás criterios médicos aceptados, así como la ubicación hospitalaria. Cuando no exista urgencia o razón médica para asignar preferentemente un órgano o tejido, este se sujetará estrictamente a las listas que se integrarán con los datos de los mexicanos en espera, y que estarán a cargo del Centro Nacional de Trasplantes.

De acuerdo al artículo 315 de la LGS, se pueden identificar 3 tipos de establecimientos relacionados con el proceso de donación y trasplante:

1. Hospitales donde se efectúan trasplantes y por tanto es de esperarse que también lleven a cabo actividades de donación u obtención de órganos y tejidos.

2. Hospitales donde se efectúan actividades de donación pero no de trasplantes (Proveedores de Órganos y tejidos)
3. Bancos de Órganos o Tejidos.

El artículo 316 de la LGS señala que estos establecimientos deben contar con un Comité Interno de Trasplantes, un Responsable Sanitario y un Coordinador, y las acciones estarán supervisadas por el Comité Institucional de bioética respectivo.

En el artículo 34 del reglamento de la LGS en materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos, se establece que el Comité Interno de Trasplante seleccionará a los receptores de órganos y tejidos, y son los responsables de aplicar los criterios de asignación. De acuerdo con el mismo artículo, la composición del Comité Interno es interdisciplinaria, formado por personal operativo experto en el programa de trasplante, por autoridades y personal del Servicio para la Donación y obtención de Órganos y Tejidos, entre otros. Un programa de trasplante se refiere al grupo de médicos especialistas en un tipo de trasplante de órgano o tejido, que bajo un protocolo de atención médica ofrecen la terapéutica del trasplante. Normalmente existe un médico especialista responsable del programa. La decisión tomada por el Responsable del programa de trasplante o sus integrantes, quienes conocen desde el punto de vista clínico a los receptores y seleccionan al receptor adecuado, requiere el aval del comité. La autoridad que ejerce el Comité Interno en el hospital esta bajo la responsabilidad y supervisión de la Coordinación Institucional de Trasplantes.

Además de las coordinaciones institucionales de trasplantes de cada institución, que ejercen una supervisión vertical en el ámbito de la misma, los Centro Estatales de Trasplantes (CEETRAS) ejercen también una supervisión horizontal, en el ámbito geográfico que les corresponde.

Mientras los CEETRAS y el CENATRA tienen como función la supervisión y vigilancia, los Comités Internos y los integrantes del programa de trasplante junto con los miembros de los servicios de obtención de órganos tienen funciones operativas.

El proceso de asignación comprende dos pasos. El primero consiste en el ofrecimiento a un Programa de Trasplante (hospital). Es decir, no se busca de primera intención al paciente, sino al hospital donde se realizara el trasplante. El segundo paso es la asignación a un paciente específico. Esta asignación la efectuará el grupo médico que conoce a los pacientes que previamente han estudiado.

Los hospitales que conforman el Subsistema Nacional de Trasplantes forman una red para la obtención de órganos y tejidos y para la realización de trasplantes. Esta red tiene varios niveles de enlace:

El primero es el conjunto de hospitales pertenecientes a una misma institución de salud que a través de los comités internos definen la distribución de los órganos y tejidos hacia los hospitales a los que envían a sus pacientes para que reciban un trasplante (sistema de referencia).

Así se organiza con claridad la red de hospitales de cada institución social, pública y privada. Estas redes pueden interactuar también entre sí para la distribución de órganos, aunque en consideración a que la aportación de los recursos físicos y económicos para la obtención de órganos y tejidos la hace cada institución, se privilegia antes que nada a los hospitales que pertenecen a la misma.

El segundo nivel inicia cuando no es posible identificar a un receptor en la red institucional y se abren los canales hacia las otras redes. Para ello se consideran primero las redes de otras instituciones similares. Por ejemplo si en la red de hospitales del IMSS no hay un receptor adecuado, la distribución se dirige hacia la red de hospitales del ISSSTE o de la Secretaría de Salud, de acuerdo con los acuerdos establecidos previamente por los comités internos.

Las redes de hospitales procuradores del sector privado realizan el mismo procedimiento: primero se distribuyen los órganos y tejidos en las unidades médicas de la misma institución. De no haber receptor adecuado se dirigen hacia otra red de hospitales privados con los que se tenga un convenio. El proyecto de las redes de hospitales procuradores forma parte del Programa de Acción Específico del Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA).

Cuando un programa de trasplante u hospital recibe el ofrecimiento de un órgano o tejido deberá de aplicar los siguientes criterios ⁽¹³⁾:

COMPATIBILIDAD. Pacientes que según criterios del programa, sean compatibles con el injerto. Entendido como grado de semejanza de factores tales como el inmunológico, el antropométrico, entre otros, dando prioridad a casos graves.

OPORTUNIDAD Y BENEFICIOS ESPERADOS. Se determinan considerando cuál de los pacientes compatibles con el injerto está disponible para recibirlo, que se encuentre localizable y en las condiciones médicas adecuadas para el procedimiento del trasplante.

FACTIBILIDAD. Se establece considerando si en el hospital existen la condiciones necesarias para llevar a cabo el procedimiento, esto incluye recursos humanos, materiales, transporte, tiempo, etc.

ANTIGÜEDAD EN LA LISTA DE ESPERA. Si existen dos o más pacientes compatibles disponibles y en todos los casos hay factibilidad para el trasplante, la asignación corresponderá al que tenga mayor antigüedad en la Lista de Espera del programa de trasplante u hospital.

Mediante la aplicación de estos criterios se define al receptor adecuado y en caso de no tener todas las condiciones se notifica al Servicio para la Donación para que haga el ofrecimiento al siguiente programa que corresponda, de acuerdo al orden establecido en el manual de procedimientos de dicho servicio.

Manejo de las Listas de espera en el CMN SXXI

El ingreso y seguimiento de los pacientes en listas de espera se guía mediante protocolos sustentados tanto en guías internacionales como en la experiencia de cada hospital.

En el caso de la Unidad de Trasplante Renal de CMN SXXI, el protocolo maneja los siguientes datos para el receptor:

- Datos generales: Nombre del receptor, edad, sexo, No. de afiliación, Grupo sanguíneo, Rh, Domicilio, Inicio de I.R.C., Etiología, Tratamiento. Fecha de nacimiento, HLA, Prueba Cruzada, transfusiones, peso, talla, IMC.
- Laboratorio: Hemoglobina, Glucosa, Tiempo de Protrombina, Albumina, ALT, Hematocrito, Creatinina, Tiempo de Protrombina Total, Calcio, Fosforo, AST, Leucocitos, Plaquetas, Colesterol, Sodio, Potasio, Ácido úrico.
- Cultivos: Orina, BAAR orina, BARR expectoración, HIV, Hepatitis B y C, CMV, Antígeno prostático, Papanicolau, Prueba serológica para la sífilis (VDLR).
- Gabinete: Rx Torax, Electrocardiograma (EKG), Fracción de Eyección ventricular (FEV), Histograma, PRM, Ecocardiograma, Endoscopia, Ultrasonido abdominal (para detectar nefropatías), Serie Ósea Metabólica (SOM), Biopsia renal, Cistouretrografía, Espirometría.
- Diabético: Ultrasonidos Iliacos, Urodinamia, Vaciamiento gástrico, Prueba de Atropina, Electromiografía, Talio dipiridamol.
- Interconsultas: Psiquiatría, Maxilofacial, Cardiología, Oftalmología, Otorrinolaringología (ORT), Colon y Recto, Urología.
- Medicamentos: Simulect; Micofenolato de mofetilo (MMF), Ciclosporina (CsA), RAPA, Timoglobulina, PDN, FK, AZA, Ciclaje.

Después del diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica, los pacientes que esperan un trasplante se encuentran en hemodiálisis, diálisis peritoneal, o pueden encontrarse en tratamiento médico, éstos últimos se consideran como trasplante anticipado.

Una vez que se diagnostica la ERC en estadio 4, se evalúa la situación clínica del paciente para determinar si se considera como candidato a Trasplante renal. Una vez aceptado, pueden darse de alta sus datos en la lista de espera y se le realizan los estudios completos del protocolo.

Según la compatibilidad de grupo sanguíneo, se busca en la lista de espera correspondiente, y se toma inicialmente a los 5 candidatos con mayor tiempo en la lista de espera. Se revisa el expediente de los pacientes para detectar que no existan condiciones médicas que contraindiquen el trasplante. Se consideran entonces la compatibilidad de HLA entre receptor y donador, incluyendo %PRA y las Pruebas cruzadas, y las características que puedan compartir, como las edades.

A los pacientes se les solicita se realicen pruebas serológicas periódicamente, de manera que se mantengan estudios actualizados. Según cada caso, es necesario realizar evaluaciones médicas periódicas para conocer si no se contraindica el trasplante.

Mientras existen condiciones que pueden dar de baja temporalmente al paciente de la lista, como un $IMC > 35 \text{ kg/m}^2$, existen otros aspectos que dan de baja definitiva a los pacientes. Además de la muerte del paciente, estos aspectos son la decisión del paciente a no recibir el trasplante y condiciones médicas que no permitan el trasplante, como son la complicación de enfermedades crónico-degenerativas como diabetes mellitus, alteraciones cardiacas, etc. En este caso se le informa al paciente las razones por las que no debe realizarse el trasplante.

Para la inducción de la inmunosupresión, se administra Basiliximab a los pacientes de donador vivo, mientras que se administra Timoglobulina a los receptores de donador fallecido; las condiciones en las que se presente el injerto pueden ser variables, y representan un riesgo a la supervivencia del injerto. Esta inducción no se administra a receptores mayores de 60 años.

Posterior al trasplante, se sigue un esquema estándar de Esteroides (Prednisona), Micofenolato de mofetilo (MMF) y un inhibidor de la calcineurina. Este último generalmente es Tracolimus, y en pacientes diabéticos se cambia por Ciclosporina.

A pesar de que un posible donador puede adquirir su tarjeta de donador ante el CENATRA, la decisión final es la de los familiares inmediatos, que son responsables legales del cuerpo. Puede tratarse de la esposa del fallecido o de los padres del mismo.

Tabla 3. Cifras de pacientes en lista de espera por grupo sanguíneo AB0, en el CMN SXXI. Enero 2016:

Grupo Sanguíneo	Pacientes
0	412
A	125
B	49

Estadísticas del Trasplante renal en nuestro país ⁽⁸⁾:

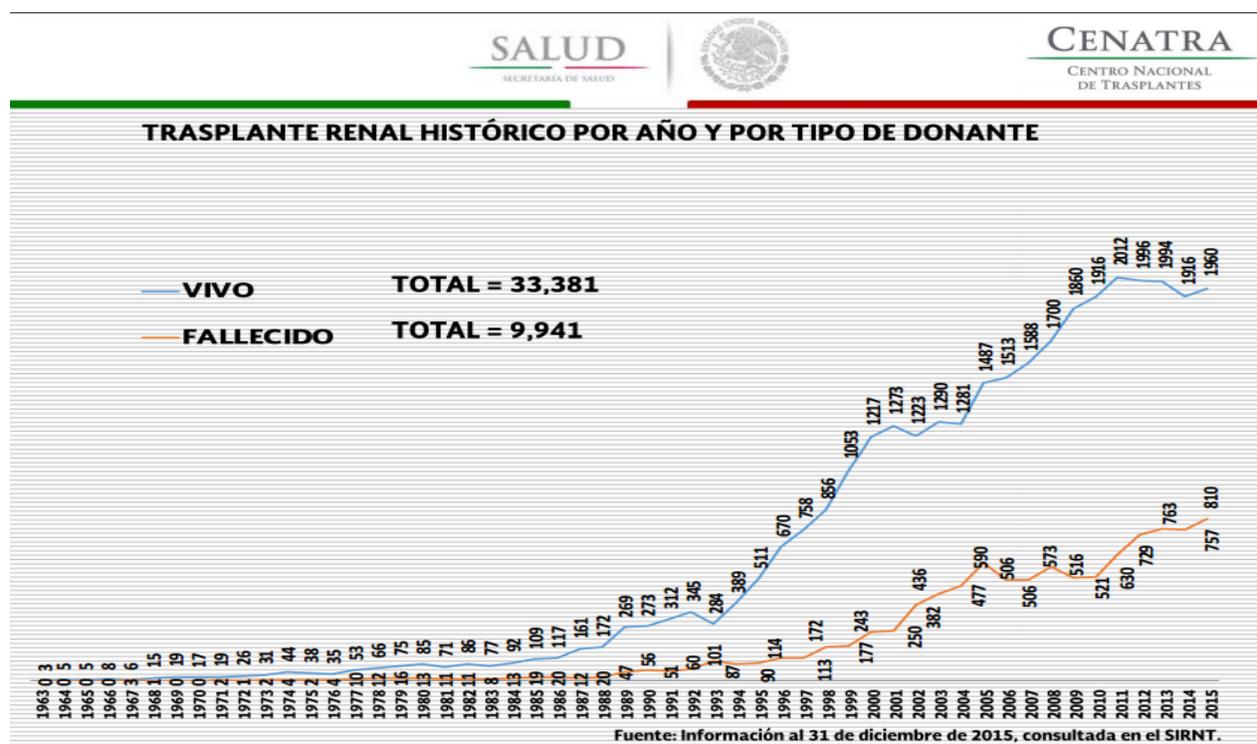


Figura 2. Gráfica de número de trasplantes renales realizados de 1963-2015 por tipo de donante.

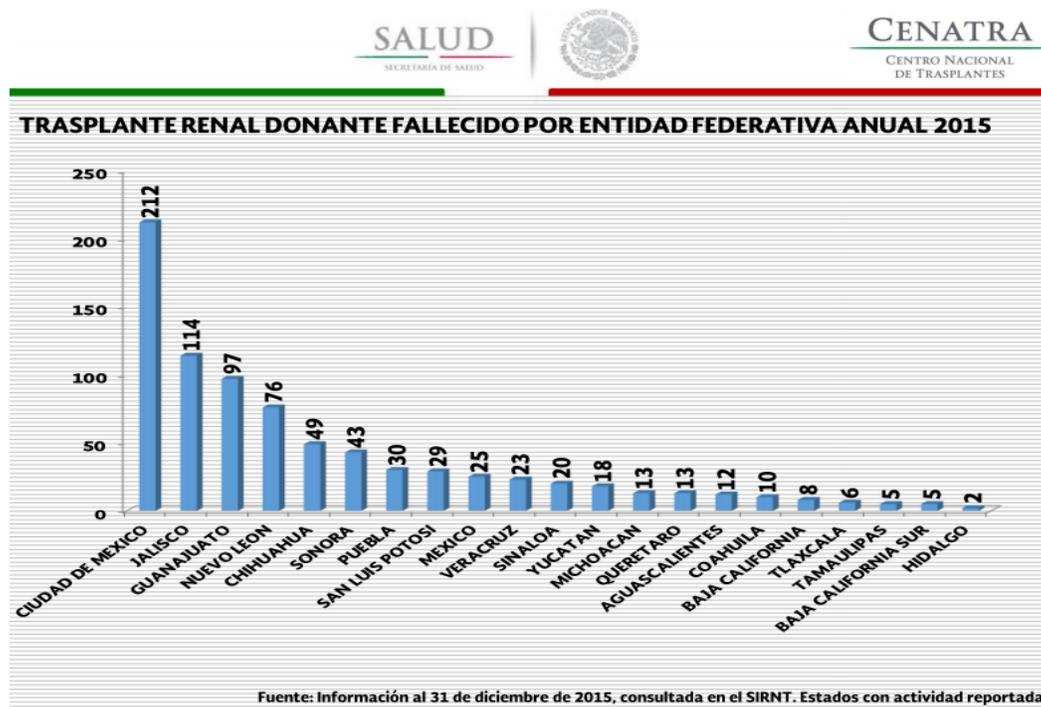


Figura 3. Gráfica de número de trasplantes renales de donador fallecido realizados por entidad. 2015.

Estadísticas mundiales del Trasplante renal (2013) ^(14, 15)

Según los datos recabados por el Observatorio Global de Donación y Trasplante (GODT, *Global Observatory on Donation and Transplantation*) en 2013, México se encuentra entre los 50 países con mayor actividad de trasplante de órganos, en cuanto al tamaño su población, ocupando el lugar 45 (Figura 4).

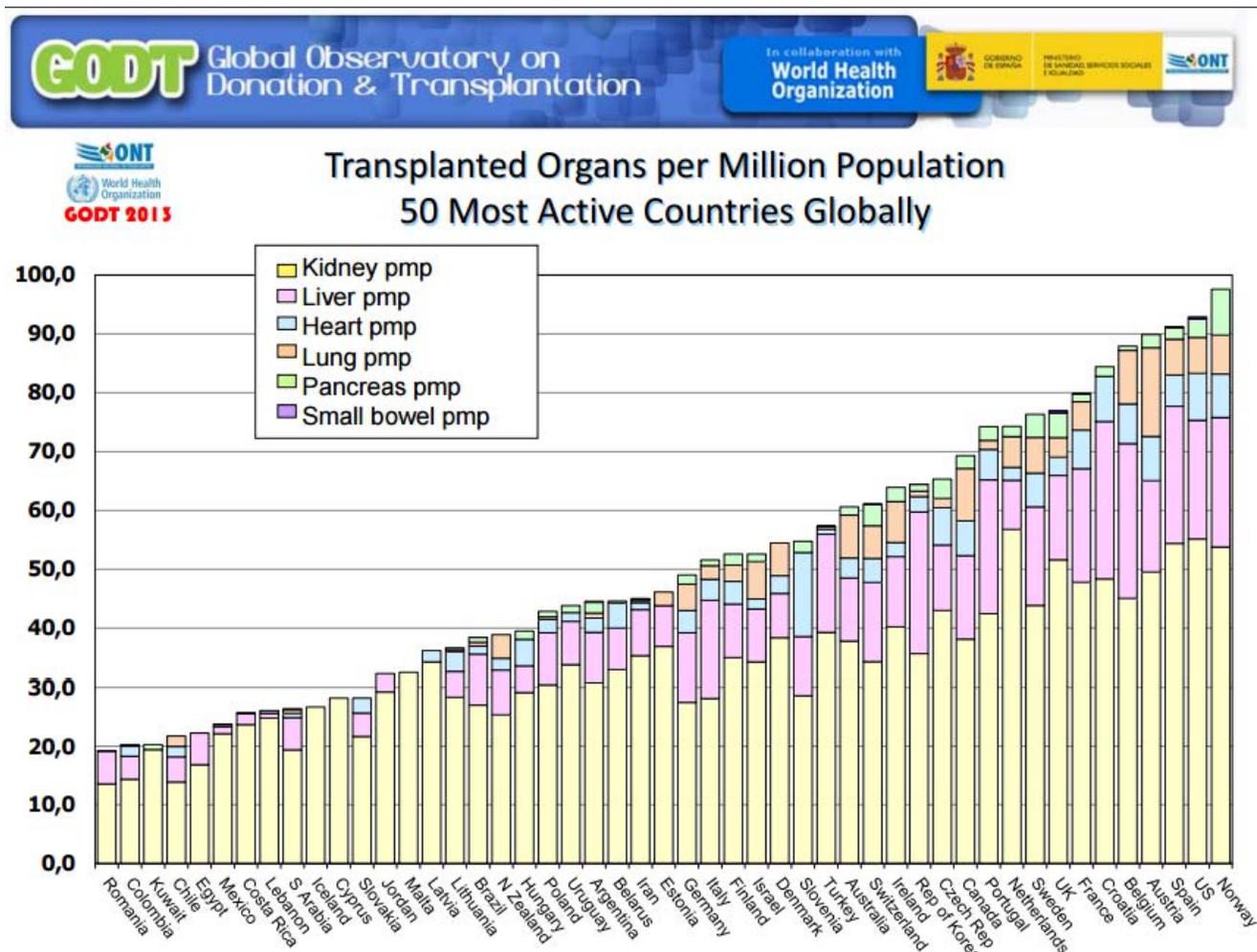


Figura 4. Los 50 países más activos en materia de trasplante de órganos sólidos. Relación de total de órganos trasplantados, en relación con millón de habitantes por país. 2013. (14)

Trasplante renal

Puede observarse en las estadísticas provenientes del GODT de 2013, que México ocupa un lugar intermedio en tema de trasplante renal entre los países con índice de desarrollo humano alto (Figura 5). En cuanto al trasplante renal proveniente de donador fallecido, en proporción a la población, México se colocó en una posición baja a comparación de otros países de la región Latinoamericana (Figura 6).

Para esto también debe considerarse que la unidad utilizada es de donadores por millón de habitantes, y no reflejan la cantidad total de trasplantes realizados. (Figura 7 y 8).

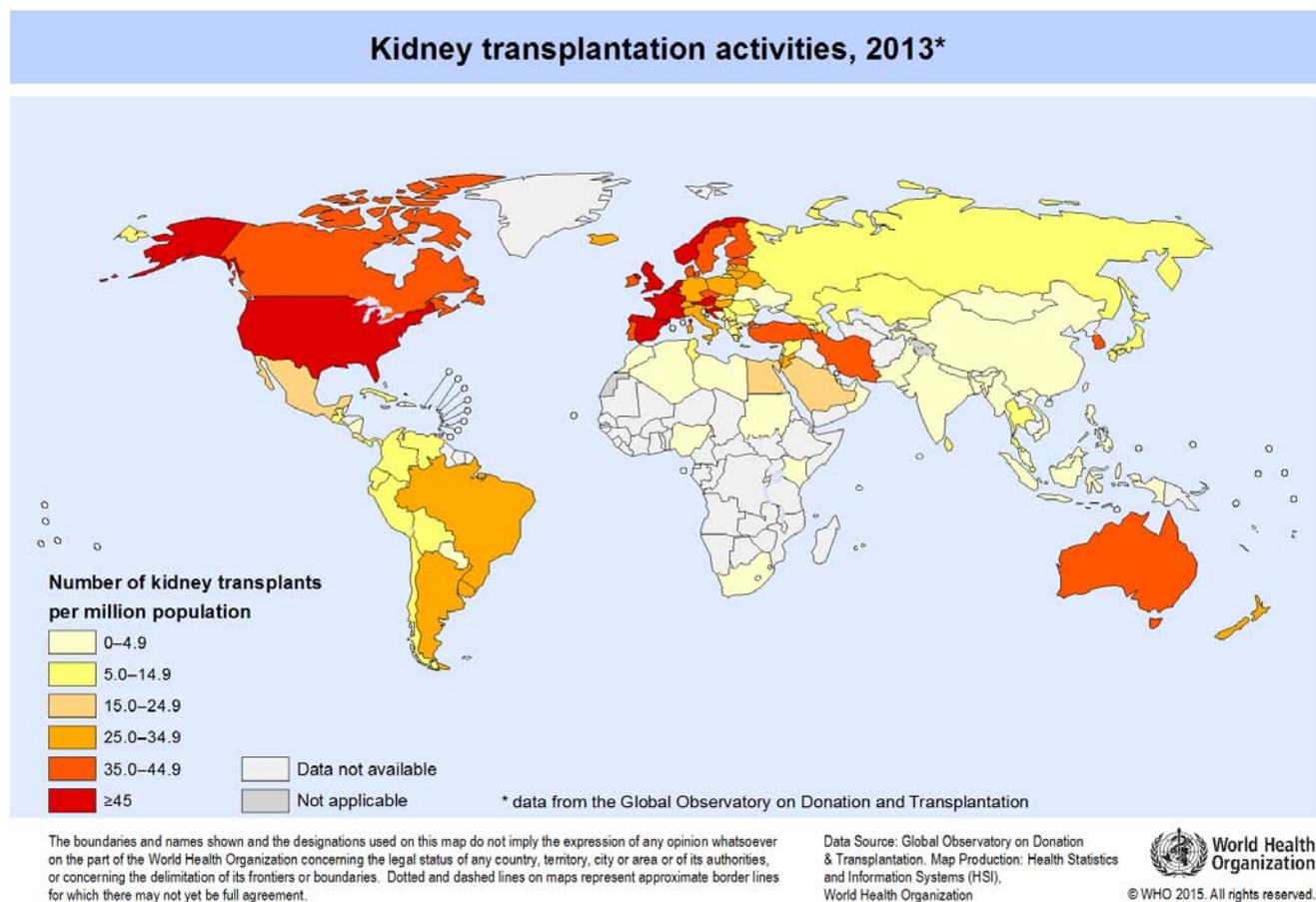


Figura 5. Actividad global de Trasplantes renales, en relación a millones de habitantes. 2013. (14). La escala de colores indica el número de trasplantes renales realizados por cada millón de habitantes en ese año.



Figura 6. Actividad de Trasplantes renales provenientes de donador fallecido en Latinoamérica, en relación a millones de habitantes. 2014. (15). Se muestra para cada país el número de trasplantes realizados con donadores fallecidos por cada millón de habitantes en ese año.

Inmunología del Trasplante y el Rechazo

Antígenos del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC).

También conocidos como antígenos HLA (por sus siglas en inglés *Human Leukocyte Antigens*), son aquellos productos de los genes MHC en el humano que al ser expresados por las células marcan la diferencia entre lo propio y lo extraño, e inducen en el receptor de un trasplante una respuesta inmunitaria. Cada variante de un gen polimórfico se denomina alelo, el cual puede estar en ambos cromosomas (homocigocidad) o ser diferente para cada cromosoma (heterocigocidad). El grupo total de alelos del MHC detectados en un cromosoma se denomina haplotipo. Los dos haplotipos de cada individuo constituyen el genotipo. El complejo del sistema HLA se localiza en el cromosoma 6 en su brazo corto. Los loci se encuentran divididos en tres regiones llamados clase I, clase II y clase III. Los loci de clase I codifican genes para la cadena pesada de las moléculas clásicas HLA-A, -B y -C, los genes no clásicos -E, -F, -G, MICA, MICB, un amplio número de pseudogenes clase I y otros genes con funciones conocidas y desconocidas. Los genes asociados a la cadena ligera de β -microglobulina se encuentran en el cromosoma 15.

La región clase II codifica genes para la cadena alfa y beta para 5 tipos de moléculas clase II: HLA-DR, -DQ, -DP, -DO y -DM. Además se localizan 4 genes que codifican proteínas involucradas en la generación de péptidos (LMP2, LMP7) o el transporte de péptidos en el retículo endoplasmático. La región del MHC clase III codifica para diferentes moléculas como: moléculas del complemento C2, C4, factor B, 21-hidroxilasa, factor de necrosis tumoral, y la proteína de choque térmico Hsp70.

El sistema MHC es el sistema genético más polimórfico que se conoce.

Las moléculas de clase I y clase II están compuestas por dos cadenas similares a las inmunoglobulinas, teniendo semejanza en la estructura de los dominios globulares de estas últimas.

Las moléculas HLA clase I contiene una cadena α (pesada) polimórfica asociada no covalentemente a una cadena β -microglobulina no polimórfica. La cadena alfa consta de tres regiones llamados dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$. Todos los polimorfismos relevantes encontrados por técnicas serológicas y celulares se encuentran en los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$, siendo aquí el sitio de unión al antígeno.

Las moléculas de clase II consiste en dos distintas cadenas polimórficas de glicoproteínas, las cadenas α y β , que se asocian no covalentemente. Es la excepción la cadena α del HLA-DR, con poco polimorfismo. Los aminoácidos de ambas cadenas se encuentran organizados en dos dominios dentro de cada cadena. A diferencia de moléculas de clase I, ambas cadenas son transmembranales. Como las moléculas de clase I, las regiones aminoterminal son citoplasmática, y son los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ los que forman el sitio de unión al antígeno.

Grupos CREG

Los individuos inmunizados por una especificidad de HLA (ejemplo B7), usualmente producirán anticuerpos que reaccionan con diferentes especificidades de HLA (ejemplo; anti- B7, B22, B27, B40). Las especificidades de clase I se agrupan en CREG's: 1, 2, 5, 7, 8, Y 12. Los productos de los genes de HLA clase I comparten epítomos públicos. Por ejemplo, un anticuerpo específico para el epítomo público 9p, reaccionara con los productos génicos A2, A9 Y A28, ya que estos contienen el epítomo público 9p. De hecho la correcta especificidad a nivel de epítomos es anti-9p, no anti-A2, anti-A9 ni anti-A28.

Dos individuos comparten los mismos fenotipos CREG pero no el mismo perfil de epítomos públicos dentro del CREG. Esto significa que un individuo ha hecho anticuerpos contra un epítomo que no posee. Por esta razón, la tipificación de los grupos CREG en trasplante es menos efectiva que la de los epítomos públicos si la meta es reducir el rechazo. 90% de los pacientes aloinmunizados producen anti-HLA contra epítomos públicos.

Presentación de aloantígenos

Cuando se efectúa un trasplante se están introduciendo en el receptor células del donante con antígenos HLA distintos a los del receptor. La naturaleza sumamente polimórfica del HLA supone que moléculas alogénicas difieran de las propias.

La presentación de alomoléculas de HLA a los linfocitos T del receptor del injerto tiene lugar por dos vías distintas para que estos puedan reconocerla (Figura 9). La primera, denominada *presentación directa*, implica el reconocimiento de una molécula HLA intacta ofrecida por las células presentadoras de antígenos (CPA) del donante, existentes en el injerto, y se debe a la similitud entre la estructura de la molécula HLA extraña intacta y las moléculas HLA propias. Por tanto, la presentación directa es exclusiva de moléculas HLA extrañas.

La segunda vía, la *presentación indirecta*, supone el procesamiento de las moléculas HLA del donante por parte de las CPA del receptor y la presentación de los péptidos derivados de estas alomoléculas asociadas a moléculas HLA propias. En este caso, el HLA ajeno recibe el mismo tratamiento que cualquier antígeno proteico extraño mediante los mismos mecanismos que los de un antígeno microbiano. Otros antígenos distintos al HLA también pueden presentarse por la vía indirecta. Estas tres vías difieren en la naturaleza y número de clones de linfocitos T alorreactivos activados y en la duración de la fase de activación ⁽¹⁶⁾.

Recientemente se ha propuesto una tercera vía, la presentación semidirecta, que combina la presentación indirecta de los alopéptidos a las células CD4⁺ y la presentación directa de alomoléculas integras a células CD8⁺. Esta se realiza gracias a una CPA del receptor que adquiere alomoléculas HLA probablemente por captación de exosomas con proteínas de superficie. Su importancia radica principalmente en la manera en que se facilita la respuesta citotóxica de las células CD8⁺ en una fase tardía ⁽¹⁷⁾

Presentación directa de aloantígenos

El reconocimiento directo de las moléculas HLA extrañas es una reacción entre un receptor de células T (TCR) normal de un linfocito T, seleccionado para reconocer una molécula HLA propia más un péptido extraño, y una molécula HLA extraña más un péptido. Las células presentadoras de antígenos del órgano donado, muy probablemente células dendríticas, presentan sus HLA de clase II junto con los péptidos antigénicos correspondientes y ello es reconocido como extraño por los linfocitos T CD4⁺ del receptor (Figura 9a). Igualmente sucede con las moléculas de clase I y linfocitos T CD8⁺ ⁽¹⁷⁾. Se sabe que una molécula alogénica de HLA unida a un péptido puede simular el determinante formado por una molécula de HLA propio más un péptido extraño determinado. La similitud entre una molécula HLA alogénica y el HLA propio más un péptido extraño es suficiente para que los linfocitos T restringidos por el HLA propio normal reconozcan también moléculas HLA alogénicas ^(16, 18). Muchos de los linfocitos T alorreactivos capaces de responder a la primera exposición a una molécula HLA alogénica son linfocitos T de memoria que se generaron durante una exposición previa a otros antígenos extraños, como microbianos o virales ⁽¹⁸⁾.

Por otra parte, muchos de los péptidos asociados a moléculas HLA alogénicas y que intervienen en la presentación directa proceden de proteínas idénticas en el donador y el receptor (péptidos propios) ⁽¹⁹⁾. Los mecanismos de inducción de tolerancia sólo actúan para eliminar o desactivar linfocitos T que responden a complejos de péptidos propios asociados a moléculas HLA propias. Los linfocitos T específicos para péptidos propios más HLA alogénicos no se eliminan y están disponibles para responder a los aloinjertos. Cualquier célula de un aloinjerto puede expresar numerosos complejos HLA-péptido. La presentación de múltiples péptidos derivados de diversas proteínas por una molécula HLA alogénica representa una gran variedad de determinantes capaces de ser reconocidos por múltiples clones de linfocitos T, por lo que una misma célula alogénica puede activar muchos clones distintos de linfocitos T. Hasta el 2% de los linfocitos T de un individuo pueden reconocer de forma directa y responder a una molécula aislada de un HLA extraño ⁽¹⁶⁾.

Esta elevada frecuencia de linfocitos T reactivos frente a moléculas HLA alogénicas es una de las causas por las que los aloinjertos desencadenan respuestas inmunitarias intensas *in vivo*. Este reconocimiento directo es predominante en la fase aguda de la respuesta inmune alorreactiva contra el injerto ⁽²⁰⁾.

Presentación indirecta de aloantígenos

Las moléculas HLA alogénicas pueden ser procesadas y presentadas por las CPA del receptor que penetran en el injerto y las moléculas procesadas son reconocidas por los linfocitos T como antígenos proteicos extraños convencionales. Esto se debe a que las estructuras de los HLA alogénicos son distintas a las del huésped, pueden procesarse y presentarse al igual que cualquier otro antígeno proteico ajeno, con generación de péptidos que se asocian a las moléculas HLA propias en la superficie de las CPA del receptor (Figura 9b). La presentación indirecta provoca un alorreconocimiento por parte de los linfocitos T CD4⁺, pues las CPA adquieren los aloantígenos mediante fagocitosis, expresando los péptidos en moléculas HLA clase II. Los linfocitos T CD4⁺ activados por la vía indirecta tienen más influencia en el rechazo crónico al ayudar en la generación de linfocitos T CD8⁺ y la respuesta humoral.

Existen otros antígenos polimórficos distintos de las moléculas HLA diferentes entre el donador y el receptor (MICA, MICB), que pueden estar presentes en células endoteliales ^(21, 22). Estos antígenos provocan reacciones de rechazo más débiles o graduales y se denominan antígenos de histocompatibilidad secundarios. Casi todos son proteínas procesadas y presentadas por la vía indirecta. El reconocimiento indirecto se tiene como predominante causal en la fase crónica de la respuesta inmune alorreactiva contra el injerto ⁽¹⁷⁾.

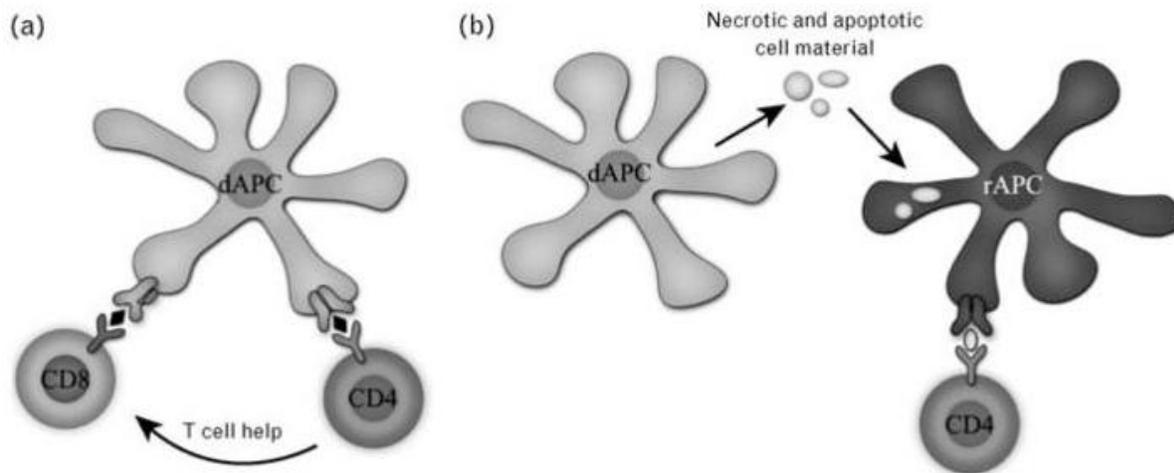


Figura 9. Presentación Directa (a) y presentación Indirecta (b) de aloantígenos.

Desarrollo de la respuesta celular y humoral frente al trasplante

La mayoría de los órganos contienen CPA residentes, tales como las células dendríticas, que expresan moléculas HLA del donador, además de coestimuladores. Estas células pueden migrar a los ganglios linfáticos regionales, siendo reconocidas por linfocitos T del receptor (Figura 10). Las células dendríticas pueden también migrar hacia el injerto, o los aloantígenos viajar a los ganglios linfáticos y ser procesados y presentados. Dado la prontitud y robustez de la alorrespuesta citotóxica de las $CD8^+$, la ayuda que proveen las $CD4^+$ en la generación de esta respuesta temprana aguda es sobre todo debida al reconocimiento directo que ocurre por parte de ambas clases de células en las CPA del donador ⁽¹⁷⁾.

El papel que juegan los linfocitos T en la respuesta crónica celular no es claro del todo. Algunos pocos estudios muestran un aumento de la respuesta restringida por el HLA propio, mientras que la vía directa se mantiene sin cambio. Sin embargo poca evidencia muestra el papel de la vía directa en el rechazo crónico.

Por otra parte, el endotelio del injerto que se va remplazando constituye un objetivo para la unión de las células $CD4^+$ de reconocimiento indirecto que adquieren capacidad citolítica, que resulta en daño causante de la reparación fibroproliferativa característica de la hiperplasia de la íntima en la vasculopatía del injerto ⁽¹⁷⁾.

Este podría ser el mecanismo de rechazo agudo presente en pacientes sin desarrollo de anticuerpos. La destrucción del endotelio vascular mediada por linfocitos T citotóxicos es parte importante de la patogénesis tanto en el rechazo agudo como en el crónico. Estas células destruyen el endotelio principalmente por exocitosis de perforinas y granzimas, con una menor contribución de apoptosis inducida por la vía Fas/Fas ligando ⁽²³⁾. A pesar de esto, sólo se teorizan modelos en los que se presentan aloantígenos HLA procesados e intactos para las células CD4+ y CD8+ respectivamente, pues no se ha demostrado de manera contundente como es que las células CD4+ ayudan a las CD8+ en un periodo tardío, donde no deberían existir células dendríticas restantes para este tipo de reconocimiento ⁽¹⁷⁾.

Por otra parte, las células Natural Killer (NK) han surgido como un tema de interés en el tema de trasplantes, dada su capacidad para distinguir células alogénicas de las propias y sus potentes mecanismos de acción citolítica. Estas células se infiltran y activan en órganos sólidos. Las células NK se activan por la ausencia de los HLA propios en la superficie celular de sus blancos, y expresan al menos un receptor inhibitorio que tiene como ligando específico las moléculas HLA clase I, previniendo una autorreactividad. Ahora se cree que el que una célula NK ataque una célula blanco depende de un equilibrio entre señales estimuladoras e inhibitorias. Aunque se ha observado que la depleción de las células NK no altera la cinética del rechazo, podrían participar en el rechazo, pues parecen proveer algún tipo de ayuda, distinta de la coestimulación CD28/CD80, a los linfocitos T del receptor, promoviendo el rechazo.

Esto explica por qué la vasculopatía del injerto cardíaco ocurre aun bajo una fuerte inmunosupresión, pues tiene poco efecto sobre la función de las células NK ⁽²⁴⁾. También es notable mencionar que las células NK activadas producen INF- γ de manera que se da una sobreexpresión de moléculas HLA clase I y II en el endotelio del injerto, contribuyendo a la alorrespuesta ^(24, 25, 26, 27).

El grado de daño al tejido causado por anticuerpos depende del isotipo, afinidad y título de estos así como de la expresión del antígeno blanco. El desarrollo tardío de anticuerpos anti-HLA clase I y II en pacientes de trasplante renal ocurre en un 20-30%⁽²⁰⁾. El desarrollo y progresión de la vasculopatía del injerto se debe a una prevalencia de anticuerpos en circulación en periodos prolongados. Los linfocitos T CD4⁺ ayudan a los linfocitos B en la generación de anticuerpos, y sólo los linfocitos T CD4⁺ estimulados por la vía indirecta que son capaces de reconocer el alo péptido después de que los linfocitos B ligan el aloantígeno a una molécula HLA clase II propia participan en esta función, en específico los linfocitos T foliculares y los linfocitos CD4⁺ de memoria previamente estimulados^(17. 28). Estos eventos requieren además de la secreción de citocinas por parte de los linfocitos T, la interacción de moléculas coestimuladoras expresadas en los linfocitos B y T, incluyendo CD40 y CD40 ligando (CD40L) respectivamente. Posteriormente los linfocitos B migran a centros germinales de folículos linfoides en órganos linfoides secundarios, resultando en una mutación de las inmunoglobulinas de superficie, y la proliferación de clones de células productoras de anticuerpos donador específico. Por lo tanto, para el rechazo agudo probablemente el papel más importante de las CD4⁺ activadas por la vía indirecta sea como ayudantes en promover la aloinmunidad humoral (Figura 10), proveyendo ayuda a los linfocitos B a diferenciarse a células plasmáticas de larga vida productoras de anticuerpos (LLPC)⁽¹⁷⁾.

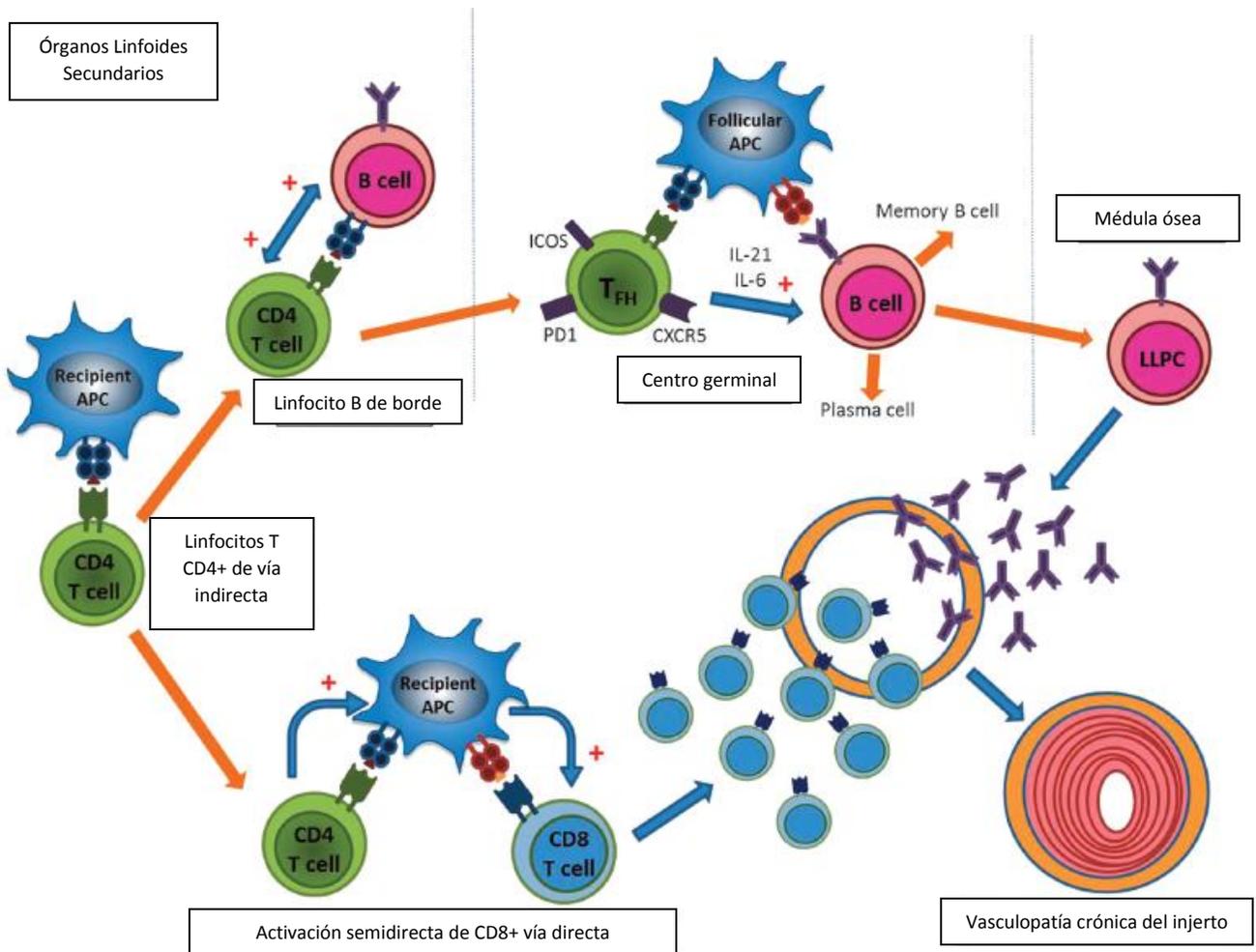


Figura 10. Respuesta celular y humoral frente al aloinjerto.

Cambio de isotipos IgM a IgG

Se tiene entonces poblaciones de clonas productoras de anticuerpos, provenientes de células B naive que reconocen el antígeno y mediante la interacción con linfocitos T se convierten en células B de memoria y en células plasmáticas de vida corta. Es entonces que la estimulación constante mediante el reconocimiento del antígeno por parte de las células B y la interacción de CD40 y CD40L dentro de centros germinales provoca que se diferencien a células plasmáticas de vida larga. Las clonas con poca especificidad son eliminadas, mientras que las de alta especificidad son conservadas.

Esta interacción coestimuladora también es esencial para el cambio de isotipo, donde las células B inmaduras que expresan IgM e IgD se diferencian a células expresando IgG, resultando en una reacción inmune sostenida ⁽²⁹⁾.

Fases del Rechazo

Rechazo hiperagudo

Se produce de minutos a horas después del trasplante. Este se debe principalmente a la presencia de anticuerpos anti-HLA, probablemente a anticuerpos donador específico (ADE) que son aquellos dirigidos contra alguna especificidad antigénica presente en el injerto, y su presencia se debe a eventos aloinmunizantes previos que condujeran al desarrollo de la respuesta humoral. Intervienen también elementos inespecíficos al injerto, como el complemento, citocinas y mediadores de la inflamación.

Cuando el revestimiento de células endoteliales de un órgano trasplantado se activa por inflamación, isquemia, manipulación quirúrgica u otros factores, se puede producir un gradiente de citocinas o una sobreexpresión de moléculas de adhesión ⁽²⁸⁾. Esto provoca el reclutamiento de leucocitos en el lecho del injerto. Si existe una población de linfocitos aloreactivos específicos a las determinantes presentes en el injerto, puede darse una respuesta citotóxica acelerada.

Rechazo agudo

El rechazo agudo resulta de la interacción de los anticuerpos dirigidos a especificidades del donador con el endotelio vascular del injerto, resultando en la activación del complemento y la infiltración de células mononucleares. Esto causa la muerte celular y pérdida de la integridad de vascular, y consecuentemente daño isquémico. Debido a la exposición de la matriz subendotelial al plasma, se da una activación de factores de la coagulación y de plaquetas, que resulta en la trombosis vascular. Por otra parte, la unión de los anticuerpos a las moléculas HLA clase I provoca el reconocimiento por parte de las células citotóxicas, que inducen la apoptosis por los mecanismos

mencionados con anterioridad. Además se da el reconocimiento directo de moléculas HLA clase I y II y la atracción e infiltración de linfocitos T y B, macrófagos y células NK. Los macrófagos actúan en etapas tempranas como células aloagresivas que contribuyen a la posterior destrucción del injerto; liberan IL-1, activando linfocitos CD4+ para la producción de sus propias citocinas: IL-2, IFN- γ y TNF α . Las células CD8+ son reclutadas secundariamente para completar el proceso de rechazo agudo. Este fenómeno ocurre en días a un par de semanas posteriores al trasplante. Permanecen como secuelas la remodelación y duplicación de la membrana basal en el glomérulo y capilares peritubulares, por lo que episodios de rechazo agudo se asocian a pérdida temprana del injerto ⁽²⁹⁾.

Esta secuencia de eventos provee blancos terapéuticos en el tratamiento del rechazo agudo. Entre las acciones a tomar se tiene la inhibición del complemento, la disminución de los títulos de anticuerpos donador específico, disminuir la producción de estos ADE y evitar la presencia, diferenciación y proliferación de linfocitos T y B alorreactivos. Por otra parte, se asocia la presencia de rechazos agudos tardíos a la pérdida del injerto en pacientes con poca adherencia al tratamiento inmunosupresor ⁽³⁰⁾. Igualmente, 28% de aquellos pacientes desensibilizados para lograr el trasplante desarrollan rechazo agudo mediado por anticuerpos.

Rechazo crónico

Los mecanismos patogénicos subyacentes al rechazo crónico son parcialmente comprendidos, dependiendo de la complejidad y origen multifactorial del proceso, que incluye factores inmunológicos como no inmunológicos. Actualmente se considera que la mayoría de los casos de rechazo crónico y pérdida del injerto se debe a la persistencia de ADE anti-HLA, reconociéndose principalmente aquellos dirigidos a moléculas HLA clase II. Las moléculas HLA clase II están fuertemente expresadas en las células endoteliales de los capilares microvasculares peritubulares y glomerulares, específicamente moléculas HLA-DR ⁽²⁶⁾. Esto se asocia al desarrollo de glomerulopatía progresiva en el injerto, que puede o no ser visible histológicamente ⁽³¹⁾.

Se manifiesta desde algunas semanas después del trasplante, hasta meses o años después. Se piensa que esto se puede dar debido a una exposición continua a anticuerpos anti-HLA donador específico en bajas cantidades, que pueden permanecer casi indetectables ⁽²⁹⁾. También se asocia su desarrollo a la mayor incidencia y severidad de rechazos agudos con características vasculares durante los primeros 6 meses después del trasplante y a mayores tiempos de isquemia durante el mismo ⁽³²⁾.

Se caracteriza por pérdida progresiva de la función del injerto con presencia de presencia de daño glomerular, con o sin deposición de C4d, y rechazo vascular con biopsias donde se encuentra inflamación intersticial y perivascular persistente, aterosclerosis con proliferación de células de musculo liso vascular y fibroblastos, necrosis de las paredes arteriales, necrosis glomerular, adherencia de monocitos a paredes vasculares y/o hemorragia intersticial ^(27,32).

Generalmente, cuando se diagnostica un rechazo crónico, no hay muchos tratamientos para alargar la vida del injerto, y el regreso a diálisis es inevitable.

Eventos aloinmunizantes

La respuesta humoral directa contra los HLA alogénicos puede establecerse por exposiciones a estas moléculas durante embarazos, transfusiones sanguíneas o trasplantes previos. El incremento de la variedad de especificidades a las que los anticuerpos anti-HLA pueden reconocer, los valores de MFI, relacionados al título y persistencia de los anticuerpos en circulación, además de un incremento en la especificidad y fuerza de los anticuerpos producidos son consecuencias de estos eventos aloinmunizantes. Todo esto lleva a un incremento de pacientes sensibilizados en las listas de espera ⁽²²⁾, con una menor probabilidad de encontrar un donador compatible contra el que no se esté aloinmunizado, incrementando el tiempo de espera de los pacientes y la probabilidad de sufrir consecuencias de la enfermedad renal crónica. También tienen como consecuencia que en caso de recibir un trasplante renal, se vea incrementado el riesgo de pérdida del injerto ^(22, 32).

La sensibilización por un primer trasplante con demasiadas incompatibilidades HLA puede llevar a que un paciente desarrolle una alorrespuesta sensibilizante, de manera que entre mayor sea la diferencia entre las moléculas HLA del receptor y su donador, mayor será la sensibilización del receptor, presentando una respuesta frente a una mayor variedad de moléculas HLA y a una mayor intensidad de la misma. Si bien es cierto que en la población pediátrica son relativamente pequeños los beneficios de un mayor emparejamiento de HLA en la sobrevida del primer injerto comparando entre diversos grados de diferencias ⁽³³⁾, resulta significativo respecto al segundo trasplante en cuanto al tiempo en lista de espera, y por tanto en el tiempo en diálisis.

La transfusión sanguínea es otra fuente de sensibilización con gran importancia debido a su extenso uso y con más posibilidad de evitarse. Una de las complicaciones más importantes en la enfermedad renal crónica, y severa en los pacientes en diálisis, es la anemia. Antes del desarrollo de la eritropoyetina, los pacientes en diálisis recibían de 6 a 8 unidades de sangre al año. Debido a que en una transfusión de eritrocitos es posible que ingresen suficientes leucocitos residuales, estos actúan como fuente de aloantígenos HLA clase I y II. Estos eventos llevan a un incremento del %PRA, es decir, de la variedad de anticuerpos que responden a distintas especificidades antigénicas del HLA, y a un incremento en los valores de MFI a ≥ 1000 y a ≥ 3000 de una variedad de estos anticuerpos ⁽³⁴⁾. Mientras la sensibilización por transfusiones es menos probable en pacientes sin exposiciones previas, esta ocurre en pacientes jóvenes y en multitransfundidos. La prevalencia de anticuerpos anti-HLA clase I y II no muestra diferencia significativa según la fecha de la última transfusión haya sido menos de 10 años hasta más de 30 años ⁽³⁵⁾, por lo que la sensibilización alcanzada en las transfusiones es persistente.

Los embarazos representan también una fuente de aloinmunización, pues los fetos expresan antígenos heredados del padre que pueden ser alogénicos para la madre. En esencia, el feto es un aloinjerto natural que no rechaza la madre. Durante esta etapa pueden detectarse anticuerpos maternos frente a moléculas HLA del padre. Mientras es más probable la sensibilización por múltiples embarazos, un embarazo es suficiente

para algunas mujeres ⁽³⁶⁾, y es probable que los 2 primeros embarazos sean los eventos que causen una mayor aloinmunización, y que aquellos embarazos que no llegan a término causan una aloinmunización poco significativa ⁽³⁵⁾, probablemente debido a un menor tiempo de exposición a los aloantígenos. La sensibilización a los aloantígenos paternos heredados tiene como consecuencia resultados desfavorables en el injerto que lleva antígenos HLA paternos ⁽³⁷⁾. También se ha observado que entre mayor sea el número de embarazos, es más probable la prevalencia de anticuerpos anti-HLA en las pacientes, en caso de que en las pacientes se realice además una transfusión, reportada como 1.7% (0 embarazos), 11.2% (1 embarazo), 22.5% (2 embarazos), 27.5% (3 embarazos) y 32.2% (4 o más embarazos) ⁽³⁵⁾.

Finalmente, es necesario mencionar que se cree que existen otros eventos que inducen la presencia de anticuerpos, como vacunas, eventos inflamatorios e infecciones por microorganismos, ingesta de proteínas y alérgenos, que reaccionan de manera cruzada con especificidades HLA. Incluso en pacientes sin historia de eventos aloinmunizantes, se encuentra la presencia de anticuerpos anti-HLA, que se sugiere son anticuerpos naturales, generalmente dirigidos a especificidades poco frecuentes ⁽³⁸⁾. Por otro lado, esto da lugar a que se tengan como factor de aumento de rechazo la presencia de ciertas variantes HLA en los receptores ⁽¹⁸⁾.

Pruebas inmunológicas del binomio donador-receptor de trasplante renal

Inicialmente, deben confirmarse la compatibilidad de los grupos sanguíneos de la pareja donador receptor, para proceder con las pruebas inmunológicas.

Tabla 4. Compatibilidad según el grupo sanguíneo.

Receptor	Donador
O	O
A1	A1 / O
A2	A2 / O
B	B / O
A1B	A1B / A1 / B / O
A2B	A2B / A2 / B / O

Con el fin de valorar la compatibilidad antigénica entre el receptor y el donador de un órgano, y optimizar la supervivencia del injerto, las pruebas inmunológicas que deben realizarse antes del trasplante son:

- | | |
|---------------------|---------------------------------------|
| 1) Tipificación HLA | 3) Determinación de anticuerpos anti- |
| 2) Prueba Cruzada | HLA y anti-MICA. |

Tipificación HLA

La tipificación de HLA empezó a principios de los 80's, usando la técnica de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Esta técnica presentó muchas dificultades, pero tenía la ventaja de no requerir amplificación del gen por clonación o uso de PCR. La PCR aceleró el proceso para detectar las copias de un solo gen, lo que anteriormente sólo era posible por técnicas de clonación.

Para la tipificación por métodos moleculares, lo principal es obtener DNA con cierta pureza y concentración, de acuerdo a cada método. Todas las tipificaciones actuales de HLA se basan en la amplificación de ciertas regiones alélicas, por PCR. Las técnicas más usadas para detectar estos alelos son tres: PCR-SSP (Iniciadores de secuencia específica), PCR-SSO (oligonucleótidos de secuencia específica) Y PCR-SBT (tipificación basada en secuenciación). Actualmente se pueden tipificar el HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ y -DP, así como MICA ⁽³⁹⁾, pero varía de laboratorio a laboratorio. Si bien existe la técnica por serología (baja resolución), actualmente se utilizan técnicas basadas en DNA (mediana resolución). Estos antígenos son muy polimórficos, de tal manera que se han identificado múltiples alelos y siguen incrementándose con el paso del tiempo. La capacidad para diferenciarlos depende de la resolución del método, siendo la secuenciación la técnica de mayor resolución.

PCR-SSP: Cada iniciador amplifica uno o varios alelos. El número total de iniciadores debe contener el total de locus conocidos para cada alelo amplificado. Dependiendo de la resolución necesaria será la cantidad de iniciadores a utilizar (alta o baja resolución), para baja resolución se requiere de 95 a 100 iniciadores para tipificar –A, -B, -C, -DR y –DQ.

Se necesitan diferentes controles para realizar la técnica PCR-SSP. Cada tubo contiene además del par de iniciadores para los diferentes locus de HLA, otros iniciadores que funcionan como control al reaccionar con otra sección del DNA. El iniciador control siempre se coloca en una cantidad menor que el iniciador a estudiar. Un segundo control es añadido como control negativo, este contiene todo menos el DNA. Cuando este da positivo quiere decir que hubo contaminación de DNA.

Los amplicones se determinan por sus pesos moleculares, según la movilidad en geles de agarosa por electroforesis. Aquellos de bajo peso molecular migran más rápido que los de alto peso molecular.

Si un producto amplificado no produce bandas, incluyendo el control de la electroforesis, el proceso de amplificación falló.

PCR-SSP es un ensayo confiable y robusto tanto para clase I como para clase II. Las ambigüedades ocurren en un 5-10% de las tipificaciones. Una de las mayores desventajas es el gran número de iniciadores requeridos para un solo paciente, por lo que el ensayo o técnica no se recomienda para una cantidad alta de muestras.

PCR-SSO: Primero, la secuencia objetivo de DNA se amplifica por PCR. El DNA amplificado se desnaturaliza y se permite que vuelva a hibridar con sondas oligoméricas de secuencia específica complementaria, conjugadas a perlas marcadas fluorescentes. Seguido de la hibridación y una serie de lavados, el marcaje en el DNA hibridado es dado por una reacción de biotinización, que permite ser detectado usando R- Ficoeritrina conjugada con estreptavidina (SAPE). Un analizador de flujo (LABScan 100, Luminex) identifica la intensidad de la fluorescencia de la ficoeritrina (PE) de cada perla. La asignación de la tipificación HLA está basada en el patrón de la reacción comparado con patrones asociados a secuencias de genes HLA publicadas.

Prueba Cruzada

Es la prueba más importante en trasplante de órganos sólidos. La prueba cruzada pretende identificar anticuerpos presentes en el receptor, en concentración clínicamente relevante y con actividad citotóxica (funcionales), que pudiera ocasionar un rechazo hiperagudo o pérdida temprana del injerto debido a la presencia de anticuerpos HLA ⁽¹⁾.

La prueba cruzada enfrenta el suero del receptor contra linfocitos del donador, y así determinar si existen anticuerpos donador-específicos. Tanto la técnica de citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y sus variantes donde se amplifica con inmunoglobulina (CDC-AHG) como la Citometría de Flujo (CF) usan linfocitos, de tal manera que de ser positiva habla de anticuerpos dirigidos contra antígenos de membrana celular (HLA y no HLA, excepto MICA que no se expresan en linfocitos). Si bien, la técnica por CDC es mucho menos sensible (requiere la existencia de niveles muy altos de anticuerpos para ser positiva), es considerada el método estándar a nivel mundial. Esta debería ser de rutina en linfocitos B y T. Las células T expresan moléculas HLA clase I pero no clase II; mientras que células B expresan ambos HLA clase I y II. La densidad de las moléculas de clase I es mayor en células B, haciéndolas más sensibles que células T para detectar bajos niveles de anti-HLA clase I. Dado que los linfocitos B también expresan antígenos de clase II del HLA en su superficie además de antígenos de clase I, se considera que una prueba de compatibilidad de linfocitos B es más sensible que una realizada con linfocitos T. El bazo contiene más linfocitos B que la sangre periférica. Una prueba de compatibilidad con linfocitos no separados procedentes del bazo es más sensible que otra realizada con linfocitos no separados procedentes de la sangre periférica ⁽⁴⁰⁾.

La prueba cruzada serológica identifica la presencia de anticuerpos dirigidos a antígenos de superficie celular, que pueden causar un rechazo humoral, pero no la aloinmunización en células T que podrían causar un rechazo mediado por células acelerado.

En general, una prueba cruzada de linfocitos T positiva es una contraindicación del trasplante. Un resultado positivo en una prueba cruzada de linfocitos B puede obtenerse por diversos motivos, como anticuerpos anticlase I/II del HLA o aloanticuerpos, inmunocomplejos, tratamiento con medicamentos antilinfocitos B (rituximab, alemtuzumab) y aloanticuerpos no HLA. En caso de una prueba cruzada de linfocitos B positiva, las decisiones individuales deben basarse en el estado de anticuerpos y los antecedentes inmunológicos del receptor.

No todos los anticuerpos linfocitotóxicos participan en la sobrevida del injerto. El suero de ciertos pacientes frecuentemente contiene autoanticuerpos que reaccionan con linfocitos, en caso de presentarse enfermedades autoinmunitarias. La mayoría de estos anticuerpos son IgM y su reactividad puede ser eliminada tratando el suero con químicos que rompen enlaces disulfuro (dithiothreitol o DTT).

DATOS IMPORTANTES PARA LA INTERPRETACIÓN DE PRUEBA CRUZADA.

1. Nombre, sexo, etnicidad o raza, y fenotipo HLA.
2. Fenotipos de HLA del donador potencial.
3. Diagnóstico del paciente.
4. Historia de embarazo en mujeres.
5. Trasplantes anteriores, con HLA del donador.
6. Historial de transfusión.
7. Historial de PRA.

Detección de anticuerpos anti-HLA. %PRA

El screening de anticuerpos anti-HLA en el suero es un trabajo importante en los laboratorios clínicos de HLA. La información obtenida se usa para determinar el grado de aloinmunización humoral, expresada en porcentaje de un panel reactivo de anticuerpos (%PRA). El análisis también proveerá información importante en cuestión de la especificidad de los anticuerpos lo que puede ser usado para predecir la incompatibilidad con el posible donador, y un posible desarrollo de rechazo agudo o crónico del aloinjerto. Esto también ha logrado la identificación del rechazo mediado por anticuerpos después del trasplante renal.

Cuando un paciente es considerado para el trasplante de un órgano, la tipificación del HLA se realiza, y en el suero se busca la presencia de anticuerpos anti-HLA. La primer parte del screening o tamizaje se realiza conociendo la reactividad del suero contra un panel de linfocitos (prueba serológica por Citotoxicidad Dependiente de Complemento) o antígenos HLA purificados unidos artificialmente a placas de ELISA o a microperlas para Citometría de flujo o para Luminex (prueba fluoroanalítica), expresado en %PRA. La segunda parte y más importante es determinar la especificidad de los anticuerpos HLA en el suero del paciente. Mientras que la CDC solo puede darnos %PRA, el resto de las pruebas tiene reactivos para hacer tamizaje, %PRA y “Single Antigen”, donde solo varía el número de antígenos fijados en dicha superficie. Cada pocillo de ELISA o microesfera contiene: 18 antígenos (para tamizaje), 6 antígenos (para %PRA) y un antígeno HLA (para “Single Antigen”. Con mucho, “Single Antigen” dará la mejor información (específica y exacta) para su uso antes o después del trasplante, de ahí que en algunos algoritmos de manejo propuestos se propone solo “Single Antigen” y un %PRA calculado a partir de esa prueba (eliminando el %PRA tradicional). Esto provee información importante en la selección de donadores vivos, o de los adecuados receptores de los donadores fallecidos, especialmente en pacientes altamente sensibilizados. La combinación de pruebas puede mostrar varios escenarios a seguir previos al trasplante ⁽⁴¹⁾.

Tabla 5. Escenarios clínicos según pruebas inmunológicas.

PC x CDC	PC x CF	Acs “Donador Específico x LUMINEX”	Interpretación y Sugerencias
POS	POS	POS	Títulos ALTOS de anticuerpos presentes antes del trasplante, CONTRAINDICACIÓN ABSOLUTA.
NEG	POS	POS	Títulos moderados. No contraindica el trasplante, pero se sugiere Plasmaféresis preTx e inducción con timoglobulina para mejorar el pronóstico. Se espera un incremento en Rechazos Humorales (si es posible buscar otro donador).
NEG	POS	NEG	Títulos moderados a bajos de Acs NO-HLA o diferentes a HLA (MICA, Antígenos menores, Anti-endotelio, etc). Se sugiere lo mismo que punto previo.
NEG	NEG	POS	Títulos MUY BAJOS. Se sugiere solo Inducción con Timoglobulina. El pronóstico se espera BUENO.
NEG	NEG	NEG	Sin anticuerpos o NO detectables. Se puede dar inducción con Basiliximab

Los anticuerpos anti-HLA casi siempre son adquiridos por aloinmunización activa. El tamizaje de anticuerpos específicos del HLA ha de realizarse 2 y 4 semanas después de todo episodio inmunizante, por ejemplo, transfusión de sangre, trasplante y embarazos ⁽⁴⁰⁾.

Los pacientes presensibilizados con %PRA elevados tienen dos desventajas principales:

- Debido a una prueba cruzada frecuentemente positiva, generalmente esperan más un órgano que los pacientes no sensibilizados
- Los anticuerpos pasados por alto o una mayor alorreactividad en la prueba cruzada puede influir negativamente en el resultado del injerto.

Ciertos esfuerzos especiales, como el programa de incompatibilidades aceptables (AM) de Eurotransplant, han logrado trasplantes satisfactorios en pacientes muy sensibilizados (PRA \geq 85 %) ⁽⁴²⁾.

Seguimiento Postrasplante

Se sabe que entre mayor es la diferencia en el emparejamiento de moléculas HLA de receptor y donador, menor es la sobrevida del injerto y del tiempo de su función. Mientras existen terapias disponibles para tratar episodios de rechazo agudo al injerto mediado por anticuerpos, éste permanece en riesgo de que se presente un rechazo crónico mediado por anticuerpos y supervivencia disminuida. Los tratamientos para el rechazo crónico mediado por anticuerpos están aún por determinarse.

Respecto a los anticuerpos donador específico detectados previo al trasplante, mientras se asocian valores bajos de MFI a los anticuerpos contra moléculas HLA clase II en la incidencia de episodios de rechazo ⁽⁴³⁾, los ADE contra moléculas HLA clase I, de valores MFI elevados, se asocian a una mayor frecuencia a rechazos mediados por anticuerpos ⁽⁴⁴⁾.

Existe una fuerte relación entre la elevación de anticuerpos postrasplantes, con una mayor asociación a los ADE, antes de que se presenten signos de rechazo del injerto como el incremento de creatinina sérica, y pueden obtenerse resultados negativos en su determinación incluso 6 meses después del trasplante ⁽⁴⁵⁾, por lo que es necesario continuar monitoreando a los receptores de un trasplante renal para detectar la elevación de anticuerpos en circulación.

Seroteca. Definición y función

La NOM-253-SSA1-2012 define a la seroteca como un “espacio donde se almacenan bajo estrictas condiciones de bioseguridad y a temperatura adecuada muestras de suero o plasma, generalmente en alícuotas congeladas, provenientes de donantes, receptores o pacientes, con el fin de efectuar futuras determinaciones analíticas que pudiesen requerirse” ⁽⁴⁶⁾.

La seroteca posibilita el agregado de nuevas determinaciones en las muestras de los pacientes, ya sea porque se hubiesen omitido en su momento, o porque los resultados obtenidos y ya informados sugieren la realización de nuevas determinaciones. Indudablemente, se obvian las inevitables molestias que causan para el paciente la extracción de la muestra, y para el laboratorio, el procesamiento preanalítico de las mismas. Al disponer entonces de la muestra archivada, se hace mucho más sencillo el confirmar un resultado o solicitar sobre esa muestra una nueva determinación.

Las serotecas tienen como propósito proporcionar una gran cantidad de información sobre la naturaleza y extensión de los eventos inmunológicos de una población. Al reunir una cantidad de muestras representativas de una población, se pueden hacer comparaciones válidas entre grupos que pueden presentar algún factor de riesgo, permitiendo establecer prioridades al actuar y diseñar programas cada vez más eficientes.

La integración de bancos a nivel nacional de los laboratorios con el mismo fin puede observarse por ejemplo, en la creación del Banco Nacional de Sueros en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, en México; no sucede lo mismo para el caso de los trasplantes, aunque existen modelos a nivel de regional como el de Argentina, donde se ha creado un Centro Único Coordinador de Ablación e Implante de la Provincia de Buenos Aires, donde tienen sede las Serotecas Nacionales de Receptores y Donadores. Esta última, creada en 2010 al contar con la infraestructura necesaria, tiene como fin descartar la transmisión de enfermedades, de manera que se garanticen los estándares de calidad, seguridad y trazabilidad de los procedimientos de trasplante ⁽⁴⁷⁾.

Además, una sola muestra puede someterse a numerosos análisis en el laboratorio para medir una amplia gama de elementos constituyentes del suero. Algunos estudios relacionados al seguimiento postrasplante de los receptores de riñón a través del tiempo transcurrido necesitan la evaluación de las concentraciones de los inmunosupresores o la determinación de las características de los anticuerpos, para manejar posibles signos de rechazo y modificar los tratamientos inmunosupresores.

Por otra parte, el entendimiento de procesos patológicos que comúnmente pueden presentarse en los pacientes trasplantados lleva al desarrollo de investigaciones mediante la determinación de los perfiles serológico e infeccioso. Todo esto se logra con muestras que se almacenan en condiciones adecuadas de temperatura en las serotecas de diversos centros y hospitales.

Justificación y planteamiento del problema:

El trasplante renal es una de las terapias de primera elección en cuestión de enfermedades relacionadas a falla renal, siendo la mejor. Entre estas terapias se encuentra la diálisis peritoneal y la hemodiálisis, pero por el amplio costo y la incomodidad de los procedimientos que implican estas a lo largo de la enfermedad, se recomienda el trasplante.

Con el fin de reducir aún más los recursos y el tiempo invertido tanto por el personal como del paciente que se encuentra en lista de espera ante la presencia de un donador fallecido, se pretende implementar una seroteca para así mantener un monitoreo constante y oportuno del estatus inmunológico del paciente.

Objetivo.

Objetivo general:

Elaborar el proyecto para implementar una seroteca para pacientes en lista de espera de donador fallecido en la UMAE-HE CMN SXXI.

Objetivos particulares

- 1.-Establecer los tiempos para la toma de muestra periódica de los pacientes en lista de espera de donador fallecido en la UMAE-HE CMN SXXI.
- 2.-Optimizar los recursos para la realización de las pruebas cruzadas de donador fallecido.
3. Proponer el uso de un carnet de identificación para la seroteca para pacientes en lista de espera de donador fallecido, con información útil para evaluar su estado inmunológico y llevar un control histórico de las pruebas realizadas.

Material y métodos.

Criterios de inclusión:

- Que el paciente se encuentre inscrito en la lista de espera de donador fallecido.
- No padecer obesidad ($IMC > 30 \text{Kg/m}^2$)
- El paciente debe haber sido estudiado en el servicio de infectología, para asegurar que se encuentra libre de infección activa.(VIH, Citomegalovirus, VHB, VHC, toxoplasmosis)
- No debe presentar infección por tuberculosis
- Evaluación por nefrología
- Evaluación por cardiología.
- Evaluación por psiquiatría.
- Determinación de *PRA específico(%PRA)*

Criterios de No Inclusión:

- Padecer obesidad($IMC > 35 \text{Kg/m}^2$)
- Paciente sin haber sido estudiado por infectología, y presentar alguna prueba reactiva en alguna infección(VIH, VHB, VHC, Citomegalovirus, toxoplasmosis)
- Presentar infección por tuberculosis.
- No haber sido evaluado por el servicio de nefrología.
- No haber sido evaluado por el servicio de cardiología.
- No haber sido evaluado por psiquiatría.

Procedimiento

Procedencia del material biológico:

Serán recibidas, registradas y almacenadas muestras que procedan de pacientes en lista de espera de donador fallecido de trasplante renal.

Manejo de la muestra:

Una vez tomada la muestra del paciente, se le realizara %PRA para ver el estado inmunológico del paciente.

Será registrado, para su posterior uso.

En caso de que llegue un donador fallecido, se tomará el suero congelado archivado del paciente para poder realizar la prueba cruzada.

Condiciones de almacenamiento:

El tiempo de almacenamiento será 5 años como máximo.

La temperatura de almacenamiento será a -20°C, en viales de 2 mL.

Las muestras de material biológico serán conservadas en cajas portaviales, las mismas que cuentan con una descripción de la distribución de las muestras, permitiendo la fácil ubicación de las mismas en los casos que se requiera. Se propone un orden de las cajas por orden alfabético del apellido paterno, y por año.

Las cajas deberán estar enumeradas en orden correlativo teniendo cada una de ellas un registro de su contenido y su fecha de procedencia.

Las muestras de material biológico serán almacenadas según el orden de llegada. Para tal efecto cada congeladora contará con un mapa de ubicación de las cajas portaviales almacenadas en cada uno de los niveles.

El mapa estará colocado en un lugar donde sea visible, por ejemplo en la puerta del congelador.

No serán almacenadas las muestras que hayan sido contaminadas durante la manipulación o en cualquier punto de su manejo.

Descripción general del estudio.

El uso de una cédula de identificación para la seroteca tiene como uno de sus objetivos conocer la cantidad de muestras de suero que se han tomado de un paciente en lapsos de un año (Figura 12). La lista de espera de los pacientes que requieren un trasplante renal incorpora los datos de grupo sanguíneo, Tipificación HLA (ANEXO 2), determinación de anticuerpos anti HLA (ANEXO 4) y especificidad de estos anticuerpos si el paciente está sensibilizado, tiempo de espera en el programa, edad y prioridad médica.

La lista de espera para trasplante renal se ordena y prioriza cada vez que se tiene un donante cadáver de acuerdo a los factores indicados anteriormente, por lo que va esta lista va a ser diferente en cada selección.

Con la finalidad de disponer de muestras de suero actualizadas de cada uno de los receptores para trasplante renal que forman esta lista, se solicita un suero cada seis meses de cada paciente con %PRA=0 y cada 4 meses de pacientes con %PRA>0 y así cuando se estudia un donante, se dispone de un suero actualizado (el último suero) más otros sueros mantenidos en el laboratorio (SEROTECA).

Los pacientes deben asistir al laboratorio dos o tres veces al año para la obtención del suero, el cual debe ser almacenado a -20°C lo que constituye la seroteca. Estas muestras serán utilizadas para la realización de las pruebas cruzadas con los donantes cadavéricos y en la determinación de anticuerpos anti-HLA de los receptores.

La toma de la muestra será obtenida en el laboratorio de HLA del Banco de Sangre Centro Médico Siglo XXI.

Si el paciente no asiste a la cita para la toma de su muestra en la fecha acordada o en su defecto 45 días después de esta en pacientes que presentan anticuerpos anti-HLA y 3 meses después en pacientes que no presentan anticuerpos anti-HLA, el paciente se inactiva de la lista de espera y si esta situación persiste por más de un año el paciente será dado de baja y su tiempo de reingreso será a partir de esta fecha.

Es importante el envío de los receptores a la toma de muestra 30 días post transfusión o post infección de importancia clínica ya que se recomienda realizar determinación de anticuerpos posterior a estos eventos. Estos sueros pueden enviarse fuera de la calendarización programada anualmente, y de preferencia deben reprogramarse la toma periódica. El tiempo de almacenamiento de la seroteca es por un máximo de 5 años cada suero. Los sueros de pacientes trasplantados se mantienen por 3 meses post trasplante y se utilizan en reevaluaciones de anticuerpos cuando sea necesario.

En el momento que se presenta una alarma de donador fallecido, se procede a realizar las pruebas previas al trasplante tanto al receptor como al donador de tipificación, prueba cruzada e identificación de anticuerpos, y según los resultados se guía el tratamiento inmunosupresor pretrasplante, de acuerdo a la Figura 11:

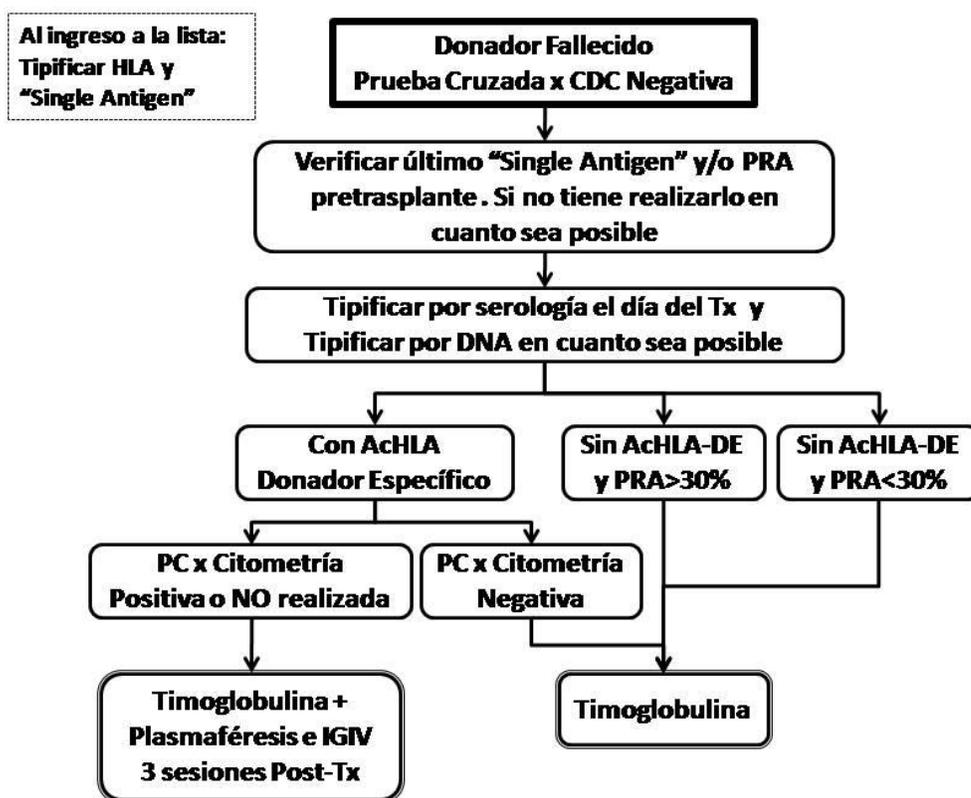


Figura 11. Algoritmo para valorar el riesgo inmunológico en trasplante de donador fallecido.

Propuesta de la Cédula de Identificación para la Seroteca de la Lista de Espera de Donador Fallecido.



Cédula de Identificación para la Seroteca de la Lista de espera de Donador Fallecido
Banco Central de Sangre. Laboratorio de HLA
UMAE, HE, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

① Nombre: _____ No. de Seguro Social: _____
 Grupo Sanguíneo: _____ Edad: _____ Sexo: _____
 Domicilio: _____
 Teléfono (s): _____ Fecha de registro: _____

② Unidad Médica de origen: _____ Fecha de estudio HLA: _____
 Fecha de ingreso a Lista de Espera: _____ Fecha de inicio en Terapia Sustitutiva: _____
 Transfusiones (# paquetes): _____ Embarazos (incluyendo abortos): _____
 Enfermedades (Autoinmunes, DM, HA): _____

③

Fecha	④ Estudio		⑤ Servicio	⑥ Motivo	⑦ Solicitó	⑧ Asistió
	%PRA	SA				

Teléfonos: _____

Figura 12. Cedula de Identificación para la Seroteca de la Lista de espera de Donador Fallecido.

1. Datos generales del paciente. También incluye la fecha de registro del carnet.
2. Datos médicos, sobre la historia inmunológica de los eventos aloinmunizantes del paciente. Indicar el número de paquetes transfundidos, y la fecha de la última transfusión. De ser posible, después de indicar el número de embarazos totales, indicar entre paréntesis aquellos que no llegaron a término. En caso de que el paciente haya tenido trasplantes previos a su ingreso a la seroteca, indicar en el cuadro la fecha de éste, parentesco del donador y en Motivo, 1er Trasplante, 2º. Trasplante, etc.
3. Fecha de la citas para la toma de muestra. Aquí las citas programadas para las muestras periódicas para la seroteca se asignaran por el personal del laboratorio de HLA y por el médico, contando 4 meses a partir de la fecha de expedición del carnet, o de la última toma de muestra.

Entre las indicaciones, se debe tomar en cuenta que en caso de existir anticuerpos preformados en el suero del paciente, con un valor de $\%PRA \geq 0$, se realizaran tomas de muestra cuatrimestrales para la seroteca, y dos en caso de $\%PRA < 0$. De manera tal que para los pacientes no sensibilizados se contara con un respaldo de 2 muestras archivadas en la seroteca por año, y 3 muestras archivadas por año para los pacientes sensibilizados.

4. Estudio solicitado, indicando con una marca aquel a realizar. Generalmente se pide el $\%PRA$ y este puede estar acompañado por SA, a su vez pudiendo acompañarse con la prueba de fijación de C1q. En el caso de que la muestra sea aquella solicitada de manera periódica para la seroteca, no se indicara ningún estudio.

5. Servicio del que proviene el paciente, ya sea Nefrología o la Unidad de Trasplante Renal, y el hospital del que proviene.

6. Motivo de la toma de muestra. Aquí es necesario señalar que la muestra de suero que se toma se almacenara y tiene como fin su disposición en cualquier momento para realizar una determinación futura, ya sea determinación de anticuerpos, o para realizar una prueba cruzada en caso de donador fallecido. Por tanto, los motivos que pueden mencionarse de manera común serán: 1) Muestra periódica, 2) Transfusión o embarazo o infección grave, 3) Monitoreo postrasplante, 4) Sospecha de Rechazo mediado por Anticuerpos (RMA) ya sea agudo o crónico.

Se agendará la cita para la Muestra periódica contando 4 meses a la última toma de muestra. En caso de que se realice una toma de muestra antes de la Muestra periódica, o que se necesite agendar una cita próxima por un evento aloinmunizante, se cancelara la cita de Muestra periódica y se reagendara sólo cuando se confirme la siguiente toma de muestra.

7. Firma o rubrica del médico especialista que solicita la toma de muestra y/o estudio.

8. Firma o rubrica del responsable de la toma de la muestra.

Discusión

Actualmente, cada vez que se genera un donante renal, los pacientes en espera son citados, deben ir a que se les tome una muestra de sangre al laboratorio para realizar los exámenes y luego dirigirse a ser evaluados al centro de implante. Esto alarga considerablemente el tiempo al momento de asignar un riñón, además de generar numerosos desplazamientos de los pacientes implicando gastos y deterioro del estado de salud.

La implementación de una seroteca ayudará a mejorar la prontitud en la que se realizan las pruebas de histocompatibilidad con el donador fallecido. En especial, la prueba cruzada, que se considera el estándar de oro para proceder con el trasplante o rechazarlo. También ayudara a mantener un control en el historial clínico de los pacientes, pues se registrarán los eventos aloinmunizantes posteriores al registro del carnet, principalmente transfusiones.

Los datos generales del paciente servirán para tener en consideración la ubicación del paciente, y la factibilidad del trasplante. Entre los datos inmunológicos, conocer los eventos aloinmunizantes ayudara a mostrar una coherencia en los resultados de las determinaciones de anticuerpos. Se sabe que estas respuestas humorales persisten por años y se mantienen constantes los títulos de anticuerpos y concentraciones de células T citotóxicas capaces de responder a la estimulación de moléculas HLA. Las determinaciones en fase sólida tienen la ventaja de permitir el análisis efectivo de cantidades considerables de distintos sueros. Por otro lado, existen estudios que muestran las siguientes características de estos ensayos:

- Existen fenómenos de prozona, que provocan falsos negativos en la detección de anticuerpos, y donde los resultados, expresados en MFI, se incrementan al realizar diluciones de los sueros.

- Existe controversia en su uso en cuanto a que pueden exponer epítomos crípticos, que son reconocidos por anticuerpos naturales y resultando en falsos positivos. También se dice que algunos resultados no son confiables, como la detección de anticuerpos anti-HLA-C, DQ y DP, debido a que a diferencia de las células, las perlas utilizadas contienen una gran densidad de antígenos de estos alelos.
- El uso de terapias con anticuerpos como la Inmunoglobulina intravenosa (IVIg), Rituximab y Basiliximab pueden interferir con las determinaciones en fase sólida.
- En cuanto la implementación de ensayos más certeros a la predicción del rechazo, se propone el uso de la determinación de la fijación de complemento, pues se muestra una relación en la fijación de la molécula C1q de la cascada del complemento, por parte de los ADE, y la sobrevida del injerto. Por otro lado, se dice que sean o no ADE, los anticuerpos capaces de fijar C1q se relacionan al rechazo crónico. Crespo et. al. contradicen esta propuesta, relacionando sólo los niveles MFI de los anticuerpos pretrasplante, sobre todo los de clase I ⁽⁴³⁾. Esto pudo deberse posiblemente a que los valores MFI para las pruebas SA y C1q no siempre correlacionan ⁽⁴⁸⁾.

A pesar de todo esto, es innegable que los ensayos de fase sólida han permitido la determinación precisa de los antígenos específicos contra los que se presentan anticuerpos en los sueros de los pacientes, lo que lleva a aproximar sus resultados a las pruebas cruzadas, a pronosticar de manera más efectiva los desenlaces que tendrán los trasplantes y a guiar los tratamientos para prevenir o tratar los rechazos. Es por esto que una determinación de SA se realiza siempre antes de llevar a cabo un trasplante, como última determinación del laboratorio de HLA. También se realiza en caso de evaluar el estado inmunológico para segundo trasplante.

En cuanto a los criterios de asignación de órganos de donador fallecido, en otros hospitales, como el INCMNSZ, y en hospitales de otros países, como Chile o España, han empezado a hacer uso de algoritmos donde se asigna un puntaje a diferentes criterios como PRA y compatibilidad HLA, tiempos en lista de espera, o según la situación de los pacientes (superurgentes, niños, pacientes de gran antigüedad, edad) ^(12, 49, 50). Esto con la finalidad de usar un método objetivo y justo.

En Estados Unidos, se aplica además una evaluación de la calidad de los riñones donados, calculando KDPI/KDRI, para estimar la posible sobrevida del injerto, con el fin de asignar aquellos riñones con más probabilidad de sobrevida a los pacientes que requieren un injerto funcional por largo tiempo ⁽⁵¹⁾.

El criterio de cero diferencias HLA sigue siendo el más importante al momento de asignar un riñón de donador fallecido. Es decir, aquellos pacientes idénticos en fenotipo HLA, de manera independiente a otros criterios, son los primeros candidatos en ser considerados para el trasplante. Por otro lado, la infancia es un periodo crítico, donde los efectos adversos de la enfermedad renal terminal pueden afectar el desarrollo del paciente. Los receptores jóvenes tienen una mayor esperanza de vida, y requerirán un injerto que funcione por muchos años, por lo que en varios protocolos empiezan a dárseles prioridad al asignar un riñón. La población pediátrica y de adultos jóvenes tienen un mayor riesgo de muerte debida a fallo del injerto, localizándose los valores más altos entre los 17-24 años de edad, independiente de la edad en la que se recibe el trasplante ⁽⁵²⁾. Aunque no se han visto factores que modifiquen este riesgo, se ha propuesto que estos pacientes deben ser monitoreados cuidadosamente para mejorar la supervivencia del injerto.

Se sabe que la disparidad en los loci HLA-A, B y DR tiene un impacto aditivo en la disminución de sobrevida del injerto a largo plazo ⁽¹⁶⁾. En cuanto a las determinaciones de anticuerpos, la incidencia del rechazo agudo es mayor en los pacientes con ADE que en aquellos pacientes ausentes de ADE, y la incidencia de rechazo agudo humoral es marcadamente mayor en los pacientes con anticuerpos anti-HLA Clase I y II, que en aquellos con una sola clase de anticuerpos ⁽⁵³⁾.

De manera general se asocia la presencia de anticuerpos *de novo* donador específico con el aumento en la prevalencia de pérdida del injerto. Es necesario entonces realizar un monitoreo constante de los pacientes pre y postrasplante, pues la información obtenida ayuda en la guía de las decisiones medicas a lo largo de todo el proceso del tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica.

Por tanto, para el carnet de la seroteca se tiene como visión que sea una herramienta útil para todo momento en el proceso de asignación de riñones de donador fallecido, al contener datos que podrían servir en algún momento a guiar el criterio de las asignaciones por parte de los integrantes del programa de Trasplante renal.

También podría proveer información necesaria para realizar futuras determinaciones con fines estadísticos o de investigación, o implementar de manera objetiva nuevas determinaciones, como la fijación del complemento, para la asignación de riñones de un donador fallecido.

Conclusión

La implementación de una seroteca para receptores de donador fallecido es necesaria para realizar las determinaciones necesarias con el fin de conocer y dar seguimiento al estado inmunológico del paciente con enfermedad renal crónica, por lo que debe invertirse en ésta. Al contar con una seroteca para los pacientes en lista de espera de donador fallecido, los tiempos de respuesta por parte del laboratorio así como el monitoreo inmunológico de estos pacientes, se verá fortalecida de la decisión clínica del médico en el manejo del paciente. Además, se optimizara el tiempo y por tanto los recursos invertidos en la búsqueda del receptor más apropiado en cada caso.

Implementar periodos para la toma de muestra mediante el uso de un carnet personalizado mejorara la atención hacia los pacientes y el compromiso de estos de llevar a término el posible proceso de trasplante.

Perspectivas

Colocar a la Seroteca de la Lista de Espera de Donador Fallecido como una referencia para realizar las pruebas inmunológicas certeras y confiables de %PRA, SA, C1qScreen, y las Prueba cruzadas, útiles para guiar las decisiones de asignación de riñones.

Mejorar la sobrevida de los pacientes y de los injertos en el programa de trasplante renal de donador fallecido, y disminuir los costos de los tratamientos requeridos, al evitar complicaciones relacionadas al retraso de la realización del trasplante.

Impulsar el compromiso y ánimo de los pacientes en lista de espera, al sentirse considerados durante su espera, cumpliendo con una asignación justa e incluyente, y hacerlos responsables de cumplir sus citas.

Utilizar los datos del paciente sobre su estado inmunológico y los resultados de las determinaciones de anticuerpos anti-HLA, permitirá considerar si existe un riesgo de rechazo del injerto en base a observaciones anteriores ⁽⁴²⁾, así como guiar el tratamiento farmacológico que los médicos deben administrar.

La estandarización de las pruebas de fijación de C1q permitirá en un futuro realizar observaciones que relacionen la capacidad fijadora de complemento de los anticuerpos y la prevalencia del rechazo, o el riesgo en base al MFI de esta prueba. Permitirá, junto con la Seroteca de la Lista de Espera de Donador Fallecido, aclarar la relación de los ADE y su capacidad de fijar complemento en el rechazo.

Referencias bibliográficas.

1. De-Leo-Cervantes C. *Pruebas de histocompatibilidad en el Programa de Trasplantes*. Rev Invest Clin 2005; 57 (2): 142-146.
2. Soriano, S. CAPÍTULO 2. *Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de enfermedad renal crónica*. Sociedad Española de Nefrología. NEFROLOGÍA. Volumen 24. Suplemento Nº 6 • 2004. Pp. 27-34.
3. Ávila-Saldivar, M. N. *Enfermedad renal crónica: prevención y detección temprana en el primer nivel de atención*. Med Int Mex 2013; 29:148-153.
4. Brauwald E., Fauci A.S., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J. L., Harrison. *Principios de Medicina Interna*. Vol. II, 15ª edición, Ed. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V., 2002, Reimpresión en México. Pp. 1815, 1824, 1826, 1830, 1832-1835.
5. Flores, J.C., Alvo M. et al. *Enfermedad renal crónica: Clasificación, identificación, manejo y complicaciones*. Suplemento. Sociedad Chilena de Nefrología. Rev Méd Chile 2009; 137: 137-146.
6. Calabia, E. CAPÍTULO 3. *Medida de la función renal. Evaluación del cociente microalbuminuria/creatinina. Valor de la tira reactiva y del examen del sedimento urinario. Indicaciones para solicitar ecografía renal*. Sociedad Española de Nefrología. NEFROLOGÍA. Volumen 24. Suplemento Nº 6 • 2004. Pp. 35-41.
7. Treviño-Becerra A. *Tratamientos sustitutivos en enfermedad renal: diálisis peritoneal, hemodiálisis y trasplante renal*. Cir Ciruj 2009 (5); 77: 411-415.
8. Centro Nacional de Trasplantes. <http://www.cenatra.salud.gob.mx/> consultado el 04/02/2016.
9. Dib-Kuri A, et al. *Trasplantes de órganos y tejidos en México*. Rev Invest Clin 2005; 57 (2): 163-169.
10. *Diagnóstico de Muerte Encefálica*. México: Secretaría de Salud, 2011.
11. *Protocolo de Trasplante Renal, INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"*, Departamento de Trasplantes y de Nefrología. Pp. 36-42.
12. Coronil J. A. *Alarma de trasplante renal. Selección del receptor*. Hospital Virgen Macarena Avenida Dr. Fedriani, 3 41071-SEVILLA. TRIMESTRE 99, nº 5/ 23-26.
13. *Lineamientos para la asignación de órganos y tejidos de cadáver para trasplante*. Marco legal. Centro Nacional de Trasplantes. Páginas 1-6.
14. Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT). *Organ Donation and Transplantation Activities 2013*. Organización Nacional de Trasplantes (España). World Health Organization. Consultado el 07/01/2016 en: http://www.transplant-observatory.org/Documents/Data%20Reports/Basic%20slides%202013_corregido.pdf
15. *International Figures on Donation and Transplantation-2014*. Newsletter Transplant. Vol. 20. International Figures on Organ, Tissue & Hematopoietic Stem Cell Donation & Transplantation Activities. Documents produced by The Council of Europe. European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO). Year 2014. Editor: Rafael Matesanz. Consultado el 15/02/2016 en: <http://www.transplant-observatory.org/SiteCollectionDocuments/eurnlcoe12.pdf>
16. Abbas A., Litchman A., *Inmunología celular y molecular*, 5ª edición, Ed. Elsevier Saunders. 2004, España. Pp. 371-381.
17. Ali J.M., Bolton E.M., Bradley J.A., Pettigrew G.J. *Allorecognition Pathways in Transplant Rejection and Tolerance*. Transplantation 2013; 96: 681-688.
18. Elkington R., Khanna R., *Cross-recognition of human alloantigen by cytomegalovirus glycoprotein-specific CD4⁺ cytotoxic T lymphocytes: implications for graft-versus-host disease*. BLOOD, 1 FEBRUARY 2005 VOLUME 105, NUMBER 3; 1362-64.

19. Lombardi, G., Sidhu, S., Lamb, J.R., et al. Co-recognition of endogenous antigens with HLA-DR1 by alloreactive human T cell clones. *J Immunol* 1989; 142: 753-759.
20. Geneugelijk K., Thus K.A., Spierings E., Review Article. Predicting Alloreactivity in Transplantation. Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Immunology Research* Volume 2014, Article ID 159479. 1-12.
21. Álvarez-Márquez A., Aguilera I. et al., Donor-Specific Antibodies Against HLA, MICA, and GSTT1 in Patients with Allograft Rejection and C4d Deposition in Renal Biopsies. *Transplantation* 2009; 87: 94-99.
22. Cecka, J.M., Zhang, Q., Reed, E.F. Preformed Cytotoxic Antibodies in Potential Allograft Recipients: Recent Data. *Human Immunology* 66, 343–349 (2005).
23. Krupnick A.S., Kreisel D. Mechanism of T cell-mediated endothelial apoptosis. *Transplantation*, 2002. Vol. 74, No.6, 871-876.
24. Kitchens W.H., Uehara S. The Changing Role of Natural Killer Cells in Solid Organ Rejection and Tolerance. *Transplantation* 2006; 81: 811- 817.
25. MaDouall R.M., Batten P., McCormak A., et al. MHC class II expression on human heart microvascular endothelial cell: exquisite sensitivity to interferon γ and natural killer cells. *Transplantation* 1997; 64: 1175-1180.
26. Muczynski, K.A., Cotner, T. et al. Unusual expression of human lymphocyte antigen class II in normal renal microvascular endothelium. *Kidney International*, Vol. 59 (2001), pp. 488–497.
27. López-Martínez, A., Chávez-Muñoz, C., Granados J. Función biológica del complejo principal de histocompatibilidad. *Rev Invest Clin* 2005; 57 (2): 132-141.
28. Conlon TM, Saeb-Parsy K, Cole JL, et al. Germinal center alloantibody responses are mediated exclusively by indirect-pathway CD4 T follicular helper cells. *J Immunol* 2012; 188: 2643.
29. Gloor, J., Cosio, F. et al. The Spectrum of Antibody-Mediated Renal Allograft Injury: Implications for Treatment. *American Journal of Transplantation* 2008; 8: 1367–1373.
30. Joseph, J.T., Kingsmore D.B., et al. The impact of late acute rejection after cadaveric kidney transplantation. *Clin Transplant* 2011; 15: 221-227.
31. Gloor, J.M., Sethi, S., Stegall, M.D., et al. Transplant Glomerulopathy: Subclinical Incidence in Association with Alloantibody. *American Journal of Transplantation* 2007; 7: 2124–2132.
32. Foster, M.C., Rowe, P.A. et al. Characteristics of cadaveric renal allograft recipients developing chronic rejection. *Annals of the Royal College of Surgeons of England* (1990) vol. 72, 23-26.
33. Foster, B.J., Dahhou, M., et al. Impact of HLA Mismatch at First Kidney Transplant on Lifetime With Graft Function in Young Recipients. *American Journal of Transplantation* 2014; 14: 876–885.
34. Yabu, J.M., Anderson, M.W., et al. Sensitization from transfusion in patients awaiting primary kidney transplant. *Nephrol Dial Transplant* (2013) 28: 2908–2918.
35. Triulzi, D.J., Kleinman, S., Kakaiya, R.M. et al. The Effect of Previous Pregnancy and Transfusion on HLA Alloimmunization in Blood Donors: Implications for a Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI) Risk Reduction Strategy. *Transfusion*. 2009 September; 49(9): 1825–1835.
36. Toyoda, M., Ge, S., Pao, A., et al. Cellular allo reactivity against paternal HLA antigens in normal multiparous females as detected by intracellular cytokine flow cytometry remains elevated over years despite diminution of anti-HLA antibody levels. *Transplant Immunology* 23 (2010) 133–140.
37. van den Boogaardt, D. E. M., van Rood, J. J., Roelen, D. L., et al. The influence of inherited and noninherited parental antigens on outcome after transplantation. Review. *European Society for Organ Transplantation* 19 (2006) 360–371.

38. Morales-Buenrostro, L.E., Terasaki, P.I., et al. Marino-Vazquez LA, Lee JH, El-Awar N, Alberu J. "Natural" Human Leukocyte Antigen antibodies found in nonalloimmunized healthy males. *Transplantation* 2008; 86:111–1115.
39. Rodey Glenn E. HLA Beyond Tears. De novo, Inc 2000; 213.
40. T. Kalble, A. Alcaraz, et al. Guía clínica sobre el trasplante renal. European Association of Urology, 2010.
41. Protocolo de Trasplante Renal. Elaboró: Dr. Ramón Espinoza Pérez, Jefe UTR UMAE HE CMN SXXI. Revisión: EBC Julio C. Martínez Álvarez, QFB Araceli Arrazola García, Lab. HLA BCS UMAE HE CMN SXXI. Fuentes: Sociedad mexicana de Trasplantes y *Guidelines on Renal Transplantation* (http://www.smt.org.mx/pdf/a7eae12ad8_protocolo.pdf). 2013.
42. De Meester J, Doxiadis II, Persijn GG, Claas FH. Renal transplantation of highly sensitized patients via prioritized renal allocation programs. Shorter waiting time and above-average graft survival. *Nephron* 2002 Sep; 92(1):111-9.
43. Lozano-González, K., Morán-Espinoza, M.C. (2015). Determinación del antígeno único como biomarcador de rechazo agudo en pacientes en protocolo de trasplante renal de la UMAE HE CMN SXXI de 2007 a 2014. Tesis mancomunada de pregrado. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
44. Crespo, M., Torio, A., et al. Clinical relevance of pretransplant anti-HLA donor-specific antibodies: does C1q-fixation matter? *Transpl Immunol.* 2013 Dec; 29(1-4):28-33.
45. Mao, Q., Terasaki, P.I., Cai, J., et al. Extremely High Association Between Appearance of HLA Antibodies and Failure of Kidney Grafts in a Five-Year Longitudinal Study. *American Journal of Transplantation* 2007; 7: 864–871.
46. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-253-SSA1-2012, PARA LA DISPOSICION DE SANGRE HUMANA Y SUS COMPONENTES CON FINES TERAPEUTICOS.
47. Resolución No. 398/10. Seroteca Nacional de Donantes. Sistema Nacional de Donación de Órganos y Tejidos. Ministerio de Salud. Argentina. Consultado el 18/04/2016 en <http://www.incuca.gov.ar/index.php/institucional/legislacion#sistema-nacional-de-información-de-procuración-y-trasplante-de-la-república-argentina-sintra>
48. Llorente, S., Boix, F., et al. C1q-Fixing Human Leukocyte Antigen Assay in Immunized Renal Patients: Correlation Between Luminex SAB-C1q and SAB-IgG. *Transplantation Proceedings*, 44, 2535–2537 (2012).
49. Madrigal-Bustamante, J.A., Vilatobá-Chapa, M., et al. Sistema de puntaje para asignación de riñones de donante fallecido a pacientes en lista de espera para trasplante. *Revista Mexicana de Trasplantes* • Vol. 3 • Núm. 2 • Mayo-Agosto 2014. 49-55.
50. Protocolo de asignación de riñones para Trasplante renal con donante cadáver. Instituto de Salud Pública de Chile. Gobierno de Chile, Ministerio de Salud. Páginas 6-9. Consultado el 15/02/2016 en http://www.ispch.cl/lab_sal/histo/doc/protocolo_asignacion_rinon.pdf
51. Organ Procurement and Transplantation Network. Policies. Pp 18-23, 25-31, 74-93. Consultado el 27/11/2015.
52. Van Arendonk, K.J., James, N.T., et al. Age at Graft Loss after Pediatric Kidney Transplantation: Exploring the High-Risk Age Window. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Jun 7; 8(6): 1019–1026.
53. Kannabhiran, D., Lee, J., et al. Characteristics of Circulating Donor Human Leukocyte Antigen-specific Immunoglobulin G Antibodies Predictive of Acute Antibody-mediated Rejection and Kidney Allograft Failure. *Transplantation* 2015; 99: 1156–1164.

ANEXO 1

TOMA DE MUESTRA DONADOR CADAVERÍCO.

Para procesar las muestras de donador cadavérico favor de tomar la sangre en los siguientes tubos:

- 4 tubos de anticoagulante ACD sol. A con capacidad de 8.5mL(tubo amarillo)
- 1 tubo sin anticoagulante con capacidad 6mL.(tubo tapa roja)

Para los ganglios linfáticos que deben ser obtenidos al momento de la procuración de los órganos, transferirlos en el medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con antibióticos enviar de 10 a 15 ganglios evitando tejido graso. Si no se cuenta con medio de cultivo, utilizar aprox. 50mL de solución de preservación de órganos y poner la solución en un contenedor estéril.

Etiquetar cada muestra con nombre completo de donador, edad, fecha, grupo sanguíneo y hora de la toma.

La muestra que se debe tomar para los probables receptores consiste en:

- Un tubo de 6.0mL sin anticoagulante (tubo tapa roja)
- Un tubo de 8.5mL con anticoagulante ACD sol. A(tubo amarillo)

Etiquetar cada muestra con nombre completo de los receptores, edad, fecha, grupo sanguíneo, y hora de la toma.

ANEXO 2

Técnica de Prueba Reactiva de Anticuerpos (%PRA)

Detección de anticuerpos anti-HLA

1. Poner una alícuota de suero de 180 μL en un tubo eppendorf de 1.5 mL.
2. Opcionalmente, incubar adicionando 20 μL de DTT, a 37 °C por 30 min.
 - ❖ Nota: Centrifugar el suero durante 7 min a 9300g para remover cualquier rastro de fibrina.
3. Dispensar en una placa de 96 pozos una alícuota de 20 μL de suero para la prueba de Tamizaje (Screening), 40 μL para la prueba de %PRA Clase I y II, y en caso de solicitarse, 20 μL de suero para cada prueba de Antígeno Único (*Single Antigen*), tanto para SA Clase I como Clase II. Dispensar el suero de cada paciente, según corresponda las pruebas a realiza. Correr un control negativo al correr cada kit.
4. Agregar a cada pozo de Screening 5 μL de perlas LABScreen ® correspondiente, 10 μL de mezcla de perlas LABScreen ® correspondiente para %PRA Clase I y II, y 5 μL de perlas LABScreen ® correspondientes a SA, ya sea Clase I o Clase II.
 - ❖ Agitar con vortex el reactivo al menos 20 segundos antes de su uso.
 - ❖ Mezclar suavemente el reactivo con el suero usando una pipeta.
5. Incubar durante 30 minutos sin luz vigilando que la temperatura esté entre 20 – 25 °C con agitación suave (opcional).
6. Lavar 3X usando 1ml del buffer de lavado. Centrifugar a 9,300g por 2 min.
7. Después del último lavado, retirar cuidadosamente todo el buffer.
 - ❖ Durante el tiempo de incubación preparar la anti-IgG humana de cabra conjugada con PE. Se encuentra a una concentración de 100X, combinar 1 μL del anticuerpo con 99 μL de buffer de lavado. Preparar también suficiente buffer de lavado (aproximadamente 5 mL por muestra) El stock del buffer tiene una concentración 10X, llevarlo a 1X.

Marcaje de la muestra

1. Añadir 100 μL de IgG-PE a cada muestra y agitar con vortex.
2. Incubar en ausencia de luz durante 30 minutos vigilando que la temperatura esté entre 20 – 25 °C con agitación suave (opcional).
3. Lavar 2X con 1mL de buffer de lavado. Centrifugar a 9,300g por 2 min.
4. Después del último lavado, retirar cuidadosamente todo el buffer.
5. Añadir 70 μL de PBS 1X a cada muestra y mezclar.
 - ❖ Nota: El volumen final tiene que ser aproximadamente de 80 μL .
6. Guardar las muestras en ausencia de luz a 4°C hasta su lectura.

Lectura de la muestra – PARA SU USO CON LUMINEX 2.2 O POSTERIOR.

1. Si no está ocupando el sistema de suministro, llenar la botella del líquido de revestimiento y cerrar la tapa.
2. Una vez que el equipo ha pasado por el calentamiento, seguir con el revestimiento, enjuagar con alcohol y lavar con líquido de revestimiento. Calibrar con esferas de control y calibración, realizar 4 lavados obligatorios. Prepara el sistema de suministro una vez terminado.
3. Seleccionar el ícono de NUEVO LOTE o NUEVO MULTI-LOTE. Seleccionar la mezcla correcta de perlas – verificar que el número de lote sea el correcto. Asignar un nombre a la sesión.
4. Introducir el ID de la muestra o importar el ID de una lista de pacientes. Verificar la correcta posición de las muestras en la placa. Seleccionar GUARDAR.
5. Si se está trabajando con un multi-lote, repetir los pasos 3 y 4 hasta completar el lote.
6. Una vez terminado, seleccionar “paso único” desde la barra del menú principal. Esto permitirá verificar si la elección de la plantilla fue la correcta y asegura que la muestra se están leyendo correctamente.
7. Colocar el equipo en la orientación apropiada y seleccionar INICIO – el tiempo de lectura varía entre 10 seg y 1.5 min dependiendo del recuento de perlas LABScreen®. Si la primera muestra fue leída correctamente quitar la selección de configuración única.
8. Cuando el equipo termine de leer una muestra continuará con la siguiente hasta leer todas.
9. Una vez terminado el proceso no es necesario guardar los datos (se realiza automáticamente).

Apagado (obligatorio)

1. Lavar 2X con fluido de revestimiento, sanitizar 1X con lejía (cloro) al 20%, lavar 3X con agua desionizada y remojar 1X con agua desionizada.
2. El equipo se puede apagar y aflojar la tapa de la botella del fluido de revestimiento.

ANEXO 3

Técnica para la extracción de sangre venosa

Material:

1. Torundas de algodón en alcohol al 70%
2. Gradilla para tubos de 13X100
3. Vortex
4. Ligadura
5. Adaptador para tubos vacutainer
6. Agujas para tubo vacutainer
7. Venda elástica adherible.
8. Tubo de 13x100 con anticoagulante ACD.
9. Tubo de 13x100 sin anticoagulante.

Elección de la vena para la veno punción

Preferentemente se puncionan las venas: cubital o media cefálica, pero cualquier vena accesible de buen calibre puede servir para la toma de muestra.

Procedimiento:

1. Rotular los tubos: con ACD para obtener sangre venosa periférica para la determinación de HLA.
2. Asegurar la aguja en el adaptador del tubo con sistema de vacío.
3. Realizar la palpación de venas adecuadas para la extracción.
4. Ligar el brazo elegido para la punción.
5. Realizar la asepsia con el algodón impregnado de alcohol al 70% en forma espiral.
6. Introducir la aguja en la piel para puncionar la vena de forma superficial, con un ángulo de 45° aproximadamente.
7. Realizar la punción.
8. Introducir el tubo de tapón rojo en el adaptador, hasta el llenado completo del tubo.
9. Desligar el brazo.
10. Colocar el tubo sin anticoagulante de tapón rojo en la gradilla.
11. Sujetar el algodón con el dedo índice
12. Colocar la venda elástica sobre el algodón y alrededor del brazo, y adherir.

ANEXO 4

Tipificación de HLA

1. Extraer el DNA, con la cantidad apropiada de pureza.
2. Preparar la mezcla de reacción para cada par de iniciadores específicos de locus que se va a llevar a cabo. En la PCR-SSO uno de los iniciadores puede estar marcado con una molécula ligadora, como la biotina, por lo que la unión del producto amplificado de DNA puede ser detectada por la adición del complejo estreptavidina-peroxidasa de rábano
3. Amplificar la mezcla de reacción en el termociclador
4. Transferir el amplicon directamente a la membrana de nitrocelulosa que contiene sondas de oligonucleótidos inmovilizados.
5. Hibridar el DNA de la muestra marcado con la sonda de oligonucleótidos. La temperatura de hibridación depende del tamaño y composición de la sonda.
6. Lavar la membrana con amortiguador astringente para remover los amplicones que no se unieron a las sondas.
7. Desarrollar la reacción química de acuerdo a las sustancias químicas unidas a las hebras de DNA. Los dos sistemas de detección más comunes son por enzimas que producen color y componentes quimioluminiscentes. Asumiendo que los iniciadores de amplificación son marcados con biotina, el complejo estreptavidina-peroxidasa, y su sustrato apropiado producirá una reacción de color visible.
8. Analizar e interpretar los resultados. Los resultados de PCR-SSO, como cualquier otro ensayo de tipificación de HLA, se basa en el patrón de diferenciación. Debido al gran número de sondas utilizadas en la tipificación de PCR-SSO, el análisis es asistido por un programa de computación.

SSP

1. Descongelar el buffer de PCR.
2. Retirar una placa de reacción del congelador, y entibiar a temperatura ambiente, cuidando de no dispersar el aceite de parafina mientras se corta o retira el sello adhesivo de la placa de reacción.
3. Retirar la Taq DNA polimerasa del congelador de -20°C y mantenerla fría.
4. Anadir al vial de buffer para PCR, 268 μl de agua y 9.3 μl de Taq DNA polimerasa para la tipificación de los loci A/B/DR/DQ (placa completa para una sola prueba) o 120 μl de agua más 4.8 μl de Taq DNA polimerasa (en caso de determinar dos loci por placa, como DR/DQ) y mezclar con vortex.
5. Retirar 8 μl de esta mezcla y añadir al pozo de control de contaminación de la tipificación individual. El pozo de control de contaminación es el último pozo de cada grupo de mezcla de iniciadores de la placa de reacción.
6. Añadir 80 μl de muestra de DNA a la mezcla restante del tubo de de PCR y mezclar con vortex.
7. Colocar 8 μl en cada uno de los pozos restantes. Evitar que la punta de la pipeta entre en contacto con el contenido del pozo.
8. Sellar la placa y llevar al ciclado térmico para realizar la PCR.
9. En un gel de agarosa al 2% colocar el producto amplificado en cada pozo, incluyendo el pozo del control negativo.
10. Realizar una electroforesis durante 24 minutos a 150 volts.
11. Leer bandas positivas en el gel con uso de un transiluminador UV, e interpretar a través de tablas.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a _____ de _____ de _____

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto para la implementación de la seroteca para fines de trasplante de riñón en donador cadavérico.

Número de Registro ante la Comisión Local de Investigación Científica: _____

El objetivo: Obtención del suero de los pacientes en lista de espera de donador fallecido, para la realización de un monitoreo de su estado inmunológico. Logrando así una optimización de tiempo y recursos.

La justificación del estudio es:

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: una toma de muestra de sangre de 6 ml con el propósito de obtener suero, y así determinar anticuerpos anti sistema anti-HLA, así como mantener el suero viable en caso que se necesite realizar una prueba cruzada con el potencial donador cadavérico.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: En el brazo se puede presentar dolor de unos segundos al momento de introducir la aguja y/o durante el proceso de la toma de muestra y/o se puede producir un pequeño moretón que desaparece por sí solo.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento: Se me informará el resultado de los estudios y se anexarán a mi expediente. Los resultados de estas pruebas no afectarán al tratamiento. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar mi parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del proyecto en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El Responsable del proyecto me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán tratados en forma confidencial.

SI autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros _____.

NO autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros _____.

El Responsable del proyecto (EBC Julio César Martínez Álvarez) se han comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en poder del paciente.

Nombre y firma del paciente

Investigador Responsable

Testigo 1
Nombre, firma, dirección y relación con el paciente

Testigo 2
Nombre, firma, dirección y relación con el paciente