



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

NIVELES PLASMÁTICOS DE SIL-2R Y MCP-1 EN ORINA AL MOMENTO DEL TRASPLANTE RENAL Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE RECHAZO AGUDO EN LOS PRIMEROS SEIS MESES POSTERIOR AL TRASPLANTE.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO EN ESPECIALISTA EN:

NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA

DR. EDGAR BARAJAS COLON

DIRECTOR DE TESIS

D. en C. Mara Medeiros Domingo

CO-ASESOR DE TESIS

D. en C. María Inés del Pilar García Roca



Ciudad de México, Febrero 2018



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.

**HOJA DE FIRMAS**

---

Dra. Rebeca Gómez-Chico Velasco.  
Jefe de Departamento de Enseñanza  
Hospital Infantil de México Federico Gómez



---

Dra. Mara Medeiros Domingo  
Jefe de la Unidad de Investigación y Diagnóstico  
en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo  
Hospital Infantil de México Federico Gómez  
Tutor de Tesis y Tutor Metodológico



---

Dra. en C. María Inés del Pilar García Roca  
Adscrita a la Unidad de Investigación y Diagnóstico  
en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo  
Hospital Infantil de México Federico Gómez  
Co-tutora de Tesis.

## DEDICATORIAS

A mi familia que me siempre me acompaña en todo momento, que me motiva e impulsa todo los días y que hicieron de mi la persona que he sido y que soy ahora.

A mis tutores y maestros de Nefrología Pediátrica quienes me inculcaron la pasión por la especialidad y a mejorar cada día como profesionista llevándome al límite de mis capacidades y guiándome a través de nuevos caminos y oportunidades y a quienes hoy en día puedo decir que son mis maestros y amigos.

A los pacientes y niños del Departamento de Nefrología Pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez a quien les debo mi admiración por sus ganas de vivir, de salir adelante, de nunca rendirse, por que con ellos no solo aprendí de sus enfermedades sino también depositaron su confianza en mí para ser su médico y en ocasiones su amigo y compañero de juegos, y que con ello me hicieron crecer como ser humano.

“Cuando quieres realmente algo, todo el Universo conspira para ayudarte a conseguirlo”

P.C.

<b>INDICE</b>	<b>Página</b>
Resumen	4
Introducción	5
Marco Teórico	5
Planteamiento del problema	9
Justificación	9
Objetivos	10
Hipótesis	10
Material y Métodos	10
Análisis estadístico	13
Consideraciones éticas	13
Limitaciones del estudio	13
Financiamiento del estudio	14
Resultados	14
Discusión	20
Conclusión	22
Bibliografía	23
Carta de consentimiento (anexo 1)	26
Carta de asentimiento (anexo 2)	30

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** Actualmente el tratamiento para la enfermedad renal crónica terminal (ERCT) es el trasplante renal. El rechazo al injerto es un fenómeno complejo entre los antígenos HLA, mediadores inmunológicos y la acción de inmunosupresores. La interleucina 2 (IL-2) es un mediador involucrado en el rechazo de órganos, mientras que la proteína 1 quimioattractora de monocitos (MCP-1) en orina se asocia con fibrosis intersticial en el rechazo agudo. No existen estudios clínicos que relacionen los niveles sIL-2R, ni los valores de MCP-1 con la disfunción del injerto y los cambios morfológicos encontrados en la biopsia renal relacionados con rechazo.

**OBJETIVOS:** Determinar si las concentraciones urinarias de MCP-1 y séricas de sIL-2R al momento del trasplante se relacionan con el desarrollo de rechazo agudo del injerto renal en los primeros seis meses post-trasplante.

**HIPÓTESIS:** La presencia de niveles urinarios elevados de MCP-1, y plasmáticos de sIL-2R al momento del trasplante se relacionan con el desarrollo de rechazo agudo en los primeros seis meses.

**MATERIAL Y METODOS:** Estudio prospectivo donde fueron incluidos 18 pacientes pediátricos que recibieron trasplante renal, de donador vivo o fallecido, entre 3 y 18 años de edad. Se excluyeron pacientes receptores de segundo trasplante renal. Se tomaron muestras el día del trasplante a los 6 y 12 meses posteriores al trasplante. Se tomaron muestras adicionales en caso de tener disfunción del injerto. Se determinaron los niveles plasmáticos de sIL2R y de MCP-1 en orina por ELISA comercial. Se realizó biopsia del injerto por protocolo al momento del trasplante (biopsia cero) y anual. Se hizo biopsia adicional en caso de disfunción de injerto.

**RESULTADOS:** Los valores basales de sIL2r plasmáticos fueron de 2421 y de MCP-1 en orina de 532.6 siendo ambos elevados. Al hacer una correlación de Spearman con la tasa de filtración glomerular a los seis meses post-trasplante encontramos una correlación negativa y significativa de MCP-1 en orina, mientras que los niveles basales de sIL2r no tuvieron relación con la TFG a los seis meses

**DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN:** Encontramos que los valores basales plasmáticos de sIL-2R y de MCP-1 en orina son más altos en los pacientes que presentaron rechazo agudo en los primeros seis meses pero debido al escaso número de pacientes con rechazo no se puede establecer hasta este momento una relación con el desarrollo de rechazo agudo. Es necesario incluir a un mayor número de pacientes, prolongar el seguimiento y procesar las muestras para las citocinas de estudio al momento de la disfunción del injerto

## INTRODUCCIÓN

El trasplante renal es aceptado como el tratamiento de elección en los pacientes pediátricos con enfermedad renal terminal.[1] En las últimas décadas se han desarrollado nuevos esquemas inmunosupresores que han permitido disminuir la tasa de rechazo agudo en el primer año post-trasplante de 80% en 1980 a 10-15% en 2012,[2] sin embargo un evento de rechazo, a pesar de sea tratado con éxito, disminuye en forma importante la sobrevida del injerto a largo plazo.

## MARCO TEÓRICO

### Inmunología del trasplante renal

El reconocimiento del órgano trasplantado como propio o extraño depende del sistema inmune a través del reconocimiento de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) o aloantígenos, que son moléculas expresadas en la superficie de las células que conforman el órgano trasplantado (aloantígenos) y son reconocidas por las células inmunitarias del receptor (respuesta inmune innata y/o adaptativa) a través de las células presentadoras de antígeno (dendríticas y macrófagos) que interactúan con los linfocitos T y B, que son las encargadas de perpetuar el rechazo.[3]

El paciente candidato a trasplante renal puede sensibilizarse hacia su donador cuando se expone a antígenos humanos leucocitarios (HLA) no propios principalmente durante las siguientes circunstancias: embarazo, transfusiones sanguíneas y trasplante previo. La sensibilización del paciente con estos anticuerpos pone en riesgo al receptor de un riñón a presentar rechazo hiperagudo.

En el trasplante renal es necesaria una evaluación inicial del porcentaje de reactividad del suero de cada paciente contra un panel celular linfocitario (*panel reactivity antibody*, siglas en inglés, % PRA), representativo de los antígenos HLA de la población en general. Según el porcentaje de mortalidad linfocitaria obtenido, se pueden definir los grupos de pacientes sensibilizados y no sensibilizados. Mientras mayor sea el porcentaje PRA, más sensibilizado se encontrará un paciente y menores serán las posibilidades de tener compatibilidad con un potencial donador. Los pacientes trasplantados con bajo porcentaje del PRA presentan mayor sobrevida del injerto comparados con los pacientes de PRA elevado.[4-6]

Por otro lado, las citocinas son proteínas solubles que juegan un papel crítico tanto en la respuesta inmune humoral como celular en el trasplante renal. Existe evidencia que la producción de citocinas está bajo control genético y la presencia de polimorfismos en los genes que les dan origen, afecta la producción y función de estas. Entre las citocinas producidas en el rechazo agudo se encuentran la interleucina 2 (IL-2), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), y el interferón gamma

(IFN- $\gamma$ ), en contraste, la interleucina 4 (IL-4) e interleucina 10 (IL-10) se han correlacionado con la protección del injerto.

La IL-10 y el TGF- $\beta$  son los principales citocinas anti-inflamatorias en la respuesta alogénica cuya producción está relacionada con la sobrevida del injerto; ambas citocinas disminuyen la respuesta TH1 y la liberación de mediadores proinflamatorios[7]. La IL-10 es producida por las células T activadas del tipo TH2 y monocitos.[8] IL-10 tiene la habilidad de promover la diferenciación de células B e inhibir la síntesis de la interleucina IL-2 y el interferón- $\gamma$ . [9]

Se ha observado que la administración de IL-10,[10] tiene un efecto predominantemente antiinflamatorio, aunque en algunos casos puede ser proinflamatorio[11] ya que puede incrementar la liberación de IFN- $\gamma$ , IP10 y otras monoquinas estimuladas por IFN- $\gamma$ , así como la actividad de CTL y NK, por consiguiente de los niveles de Granzima B.[12] Esto podría explicar el incremento de IL-10 en algunos casos de rechazo agudo.

En el riñón la IL-10 es secretada por las células mesangiales y endoteliales. El gen que codifica a esta citocina está localizado en el cromosoma 1; [13-15]. Por otro lado, la sobre expresión de la IL-10 esta relacionada con la proliferación de células mesangiales las cuales modifican su actividad y promueven cambios estructurales a nivel intraglomerular y tubulointersticial lo cual lleva a un engrosamiento de la membrana basal glomerular y la presencia de microalbuminuria, seguida de la acumulación de matriz mesangial y proteinuria relacionada con la progresión de la glomeruloesclerosis y la fibrosis tubulointersticial, estos cambios promueven la aparición de la enfermedad renal terminal y la predisposición de rechazo. [13, 14, 16]

Por otro lado, la IL-2 es responsable de la expansión clonal de los linfocitos T tras el reconocimiento a través del receptor TCR antigénico, favorece la proliferación y diferenciación de linfocitos NK y linfocitos Treg, activa la proliferación de linfocitos B, regula la síntesis de interferón, e induce la liberación de IL-1, TNF- $\alpha$ , su producción es necesaria para el establecimiento de la memoria inmunológica, a su vez tiene una acción autócrina ya que estimula a las células que la producen a través de su receptor. Se produce en los linfocitos T CD4+ y en menor proporción en los CD8+.[15]

Tras la activación de linfocitos T subsecuentemente, este se asocia a señales de coestimulación e induce la producción en forma paralela y proporcional el receptor de membrana y su forma soluble (sIL-2R), la cual es liberada a la circulación. Ambos receptores están presentes en forma transitoria tanto en la superficie de la célula T como a nivel sanguíneo, desapareciendo en un plazo de 6-10 días luego de la



presentación del antígeno. A diferencia de las células T ayudadoras, las células NK son capaces de secretar TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y GM-CSF en respuesta de IL-2.[17]

La función de sIL-2R es poco conocida, pero se piensa que regula fisiológicamente la acción de IL-2 en forma antagónica y natural [18, 19] e impide su unión con el receptor de membrana con la consecuente inhibición de su función, lo que presupone un control sobre el exceso de activación de los linfocitos T, y la sobreproducción de IL-2. El nivel circulante del sIL-2R se considera una medida indirecta de la activación de linfocitos T.[18, 19] Hay evidencias que indican que durante la fase aguda de las enfermedades renales se presentan niveles elevados de esta proteína los cuales se normalizan tras la remisión.[20-22]

En un estudio previo evaluamos los niveles del receptor soluble de IL-2 (sIL-2R) y su relación con la predicción de rechazo agudo en pacientes pediátricos con trasplante renal. Nuestros resultados mostraron que los niveles de sIL-2R disminuyeron en los pacientes que no tuvieron episodios de rechazo, mientras que aquellos pacientes que tuvieron rechazo mantenían niveles elevados del sIL-2R con una sensibilidad del 71% y una especificidad del 73%; cabe mencionar que los niveles de esta proteína antes del trasplante se encontraban elevados en todos los pacientes.[23]

No se cuenta con datos exactos de las concentraciones normales de las citocinas en individuos sanos, sin embargo Arranz y colaboradores reportaron niveles séricos de sIL-2R  $258.06 \pm 144.43$  pg/mL (rango de 88.38-525.47 pg/mL) en 20 individuos sanos.[24]

La partícula MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein 1) por su nombre en inglés es un factor biológico quimiotáctico, que se expresa en el epitelio tubular renal y que ocasiona reclutamiento de macrófagos y de fibroblastos que producen fibrosis intersticial y mesangial [25] Los niveles elevados de MCP-1 se han asociado con mayor grado de fibrosis y mayor y mas rapida progresión de la enfermedad [26]. Esta partícula ha resultado de utilidad como marcador de la fase aguda de los procesos inflamatorios en diversas situaciones clínicas, así como en la detección de inflamación y del daño renal en la fase activa de la nefropatía lúpica, nefropatía diabética, Nefropatía por IgA, vasculitis con involucro renal y en la Enfermedad Renal Crónica así como también en pacientes con disfunción crónica del injerto.[27]

En un estudio prospectivo de 52 pacientes con vasculitis donde se valoró la relación de MCP-1 en orina vs. la actividad renal y la TFG se compararon los valores de MCP-1 en orina de estos pacientes contra los valores de 20 voluntarios sanos donde se demostraron valores entre 2.2-24.3 pg/ml. [25]

Un estudio reciente describió la asociación de MCP-1 en orina con la disfunción del injerto, independientemente de la TFG así como también la asociación con mayor riesgo de eventos cardiovasculares y muerte en los pacientes con trasplante renal [26]. El rango analítico aceptable es de 2-4000 pg/ml con un coeficiente de variación de 5.9-9.2%. en el FAVORIT Trial de acuerdo a la información proporcionada por R&D system ELISA Kit®. [27]

### **Biomarcadores de rechazo agudo**

La definición de biomarcador considera una característica clínica, como proteinuria, fiebre o partícula biológica, generalmente de naturaleza proteínica, que puede ser medido en forma objetiva y que proporciona información sobre los procesos biológicos normales, sobre el desarrollo de procesos patológicos, o bien sobre la respuesta clínica que se obtiene con un tratamiento farmacológico.

El empleo de técnicas no invasivas, que predigan el rechazo del riñón trasplantado es de gran interés para el clínico. Existen estudios sobre la utilidad de la determinación de expresión génica en células urinarias de Granzima-B, Perforina, CD103, FoxP3 para predecir rechazo agudo en adultos.[28-30] Sin embargo, aunque aparentemente son métodos sensibles y precisos dependen de la calidad de la orina y su procesamiento debe ser de inmediato después de emitida.

En un estudio previo realizado en nuestro laboratorio, encontramos que los pacientes con rechazo agudo tienen niveles elevados en suero de sIL2R.[31]

Recientemente se describió un panel de genes, que determinados en sangre periférica permiten identificar a los pacientes con riesgo de rechazo agudo.[32]

### **Biopsia Renal**

La biopsia renal es el estándar de oro para el diagnóstico de rechazo. La biopsia renal pre-trasplante realizada en el donador, permite identificar la presencia de lesiones glomerulares, túbulointersticiales y vasculares preexistentes en el riñón a trasplantar, y que pueden influir en la sobrevida del injerto.[33, 34] La biopsia de protocolo en el paciente con trasplante renal y función estable del injerto es útil para la detección y tratamiento oportuno del rechazo subclínico, detectar si hay recurrencia de enfermedad original en el riñón trasplantado así como nefropatías de novo o enfermedad linfoproliferativa. [35]

### **Factores que influyen en la sobrevida del injerto**

Los riñones de donadores mayores de 55 años tienen un mayor riesgo de presentar daño crónico, lo que se ha asociado a la reducción de la función renal, hipertensión y envejecimiento acelerado.[36, 37]

Humar en 1999 reportó que la sobrevida del injerto es mejor en receptoras femeninas de riñón masculino. Por otro lado, el embarazo puede afectar la capacidad de la respuesta inmune femenina a través de la sensibilización alógena, la tolerancia y la presencia de microquimerismos [38, 39] esto sugiere que el género del receptor es un factor de riesgo para la presencia de nefropatía crónica del aloinjerto (CAN).[40]

El tiempo de isquemia es otro de los factores relacionados con la sobrevida del injerto, tiempos de isquemia prolongados promueven un retraso en la función del injerto (DGF), un aumento de CAN y una disminución en la sobrevida del injerto. [38, 41, 42]

La edad al trasplante es importante para el pronóstico a largo plazo. Al comparar la sobrevida del injerto renal a 10 años según el grupo de edad, los pacientes menores de 5 años tienen la mejor sobrevida mientras que los adolescentes y los mayores de 65 años tienen la peor sobrevida del injerto.[38, 41, 42]

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

A pesar de los esquemas actuales de inmunosupresión, con los cuales se ha logrado reducir la frecuencia de rechazo del injerto renal, el desarrollo de rechazo disminuye la sobrevida del injerto. Se necesita identificar biomarcadores que se asocien con patrones anatomopatológicos y a mecanismos patogénicos definidos que permitan predecir el rechazo de forma no invasiva. En un estudio previo encontramos que los niveles séricos de sIL2R se elevan en los pacientes con rechazo agudo. La IL-10 es una citocina antiinflamatoria que se ha relacionado con protección al injerto. No existen estudios clínicos que relacionen los niveles de expresión génica de IL-10 con la disfunción del injerto y los cambios morfológicos encontrados en la biopsia renal relacionados con rechazo.

## **JUSTIFICACIÓN**

La biopsia renal es el estándar de oro para el diagnóstico del rechazo agudo al injerto renal, sin embargo se trata de un procedimiento invasivo que generalmente se indica una vez establecida la disfunción del injerto renal. Existe la necesidad de encontrar biomarcadores que permitan estratificar a los pacientes según el riesgo de desarrollar rechazo agudo, así como de biomarcadores tempranos de rechazo agudo del injerto.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar si las concentraciones urinarias de MCP-1 y séricas de sIL-2R al momento del trasplante se relacionan con el desarrollo de rechazo agudo del injerto renal en los primeros seis meses post-trasplante.

Determinar si las concentraciones urinarias de MCP-1 y séricas de sIL-2R al momento del trasplante se relacionan con el deterioro de la tasa de filtración glomerular en los primeros seis meses post-trasplante.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿ Los niveles basales urinarios de MCP-1, plasmáticos de sIL-2R se relacionan con el desarrollo de rechazo agudo del injerto y el deterioro de la función renal en los primeros seis meses post-trasplante?

## **HIPÓTESIS**

La presencia de niveles urinarios elevados de MCP-1, y plasmáticos de sIL-2R al momento del trasplante se relacionan con el desarrollo de rechazo agudo en los primeros seis meses.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### ***Diseño del estudio***

Estudio de cohorte prospectivo, en pacientes pediátricos mexicanos con trasplante renal en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

### ***Cálculo de Tamaño de muestra***

La hipótesis principal del estudio es que los valores de IL10 y sIL-2R son capaces de predecir rechazo renal. En nuestro medio el rechazo renal (p) es del 30%, por lo que se calculó que las interleucinas podran ser predictoras de rechazo con una precisión (e) de mas menos 0.05%. Por lo que se usó la fórmula de una sola proporción, asumiendo alfa (Z) de 0.05%

$$n = (Z^2 \times P(1 - P))/e^2$$

con lo que se requieren de 77 pacientes para completar el estudio.

Este tamaño de muestra es suficiente para realizar los modelos multivariados (Regresión Logística y Sobrevida de Cox) con 3 variables confusoras usando la fórmula de Variables por evento, esperando una prevalencia de la enfermedad del 30% (Es decir 24 eventos positivos).

Para fines de esta tesis se analizaron los valores basales plasmáticos de sIL2r y urinarios de MCP-1 y su relación con la presencia de rechazo agudo y disminución con la tasa de filtración glomerular a 6 meses.

### ***Criterios de Inclusión***

1. Pacientes pediátricos que recibieron trasplante renal
2. Edad entre 3 a 17 años 11 meses al momento del trasplante
3. Cualquier género
4. Firma del consentimiento informado por los padres o tutores, y asentimiento en pacientes mayores de 6 años

### ***Criterios de Exclusión***

1. Pacientes con Panel Reactivo de Anticuerpos (PRA) > 20%, y que no compartan ningún haplotipo debido a mayor probabilidad de que el receptor presente anticuerpos anti-donador específico.
2. Receptores de segundo trasplante renal.

### ***Criterios de Eliminación***

1. Deseo voluntario de abandonar el estudio
2. Pacientes con falta de adherencia documentada
3. Pacientes en los que no se cuente con biopsia cero y anual
  - a. La toma de biopsia cero será decisión del equipo de Cirugía de trasplantes de acuerdo a las características del tejido procurado, los hallazgos quirúrgicos y evolución transoperatoria del paciente, por lo tanto: No se eliminarán a los pacientes que no cuenten con biopsia cero debido a complicaciones o hallazgos transoperatorios que contraindiquen la toma de la misma.
4. Pacientes con pérdida del injerto por otras causas ajenas a rechazo del injerto

Los pacientes recibieron el tratamiento inmunosupresor de acuerdo a el protocolo de manejo que se lleva en el departamento de Nefrología:

- Inducción: 2 dosis de basiliximab, 2 dosis de metilprednisolona
- Mantenimiento: Prednisona, tacrolimus, micofenolato mofetilo

- Variaciones al tratamiento: Ácido Micofenólico, Ciclosporina, Sirolimus.

### **Muestras de sangre**

Se tomaron 6 mL de sangre el día del trasplante (previo a la administración de basiliximab), al mes 1, 3, 6 y 12 meses posteriores al trasplante; para fines de esta tesis reportamos los pacientes a 6 y 12 meses (n=18). Se tomaron muestras adicionales en los casos de disfunción del injerto ( $\geq 0.3\text{mg/dL}$  en la creatinina sérica) independientemente de la causa

### **ELISA MCP-1 en orina**

Para la evaluación de MCP-1 se utilizó un kit de ELISA comercial (Quantikine® Human CCL2/MCP1 Immunoassay Catalog number DCP00 SCP00 PDCP00, R&D Systems) y se realizará la lectura a 450 nm; cada muestra por duplicado y los valores se expresarán en pg/ml.

### **ELISA sIL-2R**

Para la evaluación de sIL-2R se utilizó el receptor soluble Interleukin 2 Receptor (sIL-2R), ELISA Kit ( Catalog number MBS266966) ( My biosecure). Se realizaron diluciones con agua bidestilada (1:25) y se realizará lectura a 450 nm, el número de veces que se haya diluido la muestra

### **Función renal**

Se evaluó mediante la determinación de creatinina sérica. La estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG) se calculó con la fórmula de Schwartz bedside. [39, 42]

$\text{TFG (mL/min por } 1.73 \text{ m}^2) = (0.413 \times \text{Talla (cm)}) / \text{CrS}$  en donde CrS es la creatinina sérica el valor de 0.413 es un valor constante

### **Biopsia renal**

Se realizó biopsia renal del injerto percutánea guiada control ultrasonido al momento del trasplante, a los 12 meses y cuando había disfunción de injerto. Las biopsias fueron evaluadas por el Departamento de Patología de nuestra Institución e interpretadas de acuerdo a la clasificación de Banff 97 y 2013. [3]

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables cuantitativas peso, talla, edad, TFG se analizaron buscando su tipo distribución usando métodos mentales, determinación de sesgo y curtosis y pruebas de hipótesis de Shapiro y Kolmogorov. A partir del tipo de distribución se eligió el tipo de medida de resumen de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar o Rangos intercuartiles RIQ).

Las variables cualitativas: causa de uremia, fuente de injerto, tipo de rechazo, género se resumieron con frecuencia y porcentajes.

Se calculó el porcentaje de pacientes que presentaron rechazo agudo en los primeros seis meses post-trasplante renal y se compararon los niveles plasmáticos de sIL2r en y los de MCP-1 en orina en ambos grupos.

Se hizo una correlación entre los niveles basales de las citocinas estudiadas y la tasa de filtración glomerular a los seis meses post-trasplante.

En todos los casos un valor  $p < 0.05$  fue considerado como estadísticamente significativo. Usamos el programa SPSS V.20.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Es un estudio con riesgo mayor al mínimo por la toma de biopsia renal y de muestras sanguíneas. La biopsia es un procedimiento invasivo con los riesgos ya mencionados previamente, aunque cabe mencionar que en nuestra institución se realiza con un equipo profesional. El proyecto se apega a las recomendaciones internacionales para la investigación en Seres Humanos (Declaración de Helsinki), y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Todos los procedimientos realizados fueron autorizados a través de una carta de consentimiento y asentimiento informado que son adjuntados como anexos.

Este protocolo ha sido aprobado por los Comités de Ética, Bioseguridad e Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIM-2016-025 SSA1253)

## **LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Parte de la información será recolectada del expediente clínico, en algunos casos la información vertida en el expediente se encuentra incompleta.

En ocasiones no se pudo contar con biopsia cero dependiendo del injerto procurado, el tiempo de isquemia fría (>12 hrs de isquemia fría pone en riesgo la viabilidad del

injerto), las comorbilidades del paciente (trastornos tromboticos o discrasias sanguineas que requieran administración de anticoagulación), y la evolución transoperatoria del paciente (estado hemodinamico) que pudiera poner en riesgo la integridad del injerto. En esta tesis se presentan los resultados a seis meses de seguimiento por lo que el número de pacientes incluidos en el estudio aun es reducido e insuficiente para comprobar la hipotesis y cumplir los objetivos del estudio.

## **FINANCIAMIENTO DEL ESTUDIO**

Para la realización del estudio, se obtuvo financiamiento a través de Fondos Federales

## **RESULTADOS**

### **CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES.**

Se realizaron en nuestra Institución 38 trasplantes renal desde el primero de marzo de 2016 hasta el 16 de junio de 2017, de los cuales se han incluido al estudio 28 pacientes y 10 se han excluido, 7 por no haberse negado a ingresar al estudio y 3 por perdida del injerto (Gráfico 1); de los cuales 2 fueron por trombosis venosa y 1 por recurrencia de la enfermedad en el riñón trasplantado. Contamos con seguimiento a seis meses de 18 pacientes que tenian todos los criterios diagnósticos. En la tabla 1 se presentan las características demográficas del los pacientes así como las características clínicas relacionadas al trasplante renal. La edad media fue de 15.8 años teniendo mayor proporción de género masculino (72.2%). El grupo sanguíneo O fue el de mayor prevalencia (72%) y la causa mas frecuente de ERC fue indeterminada (55%); cursaron con hipertensión arterial sistémica en el pretrasplante 83% de los pacientes; 50% tuvieron TRR con hemodialisis y solo 1 paciente recibio trasplante anticipado.

### **CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS PRE TRASPLANTE**

De las características clínicas del trasplante, la mitad de los injertos fueron de donador vivo, y la otra mitad fueron de donador cadaverico (50-50%) el tiempos de isquemia promedio fue de 1.5 hrs en promedio, siendo los tiempos mas prolongados entre los pacientes de donador fallecido. Dos pacientes (11%) tuvieron PRA mayor de 20% sin embargo se decidió que debían continuar en el estudio ya que comparten 8 y 13 haplotipos de HLA entre su donador y receptor respectivamente, con lo que no cumplan el criterio de exclusión para este caso. 17 de los pacientes (94%) no tuvieron eventos aloimmunizantes previos al trasplante y 6 pacientes (33.4%) tuvieron riesgo alto para infección por CMV. De los 18 pacientes solo se cuentan con 14 biopsias del injerto al momento del trasplante en el que se encontraron los siguientes hallazgos patologicos: 4 (28.8%) con glomerulo esclerosis focal y segmentaria; 4 (28.8%) con aterosclerosis; 3 (21.4%) sin



alteraciones; 3 (21.4%) con necrosis tubular aguda y 2 (11%) con cambios isquémicos leves. De los pacientes sin biopsia renal al momento de trasplante (n=4), 2 de ellos tuvieron hematoma subcapsulares, 1 fue trasplante renal en bloque y 1 recibió anticoagulación pre y transoperatoria lo que contraindicó la toma de biopsia.

## **SEGUIMIENTO POSTERIOR AL TRASPLANTE**

En el seguimiento posterior al trasplante se dividieron a los pacientes en 2 grupos, 1 con los pacientes que presentaron Rechazo agudo del injerto (n=2) y otro con los pacientes que no tuvieron rechazo (n=16). 8 pacientes presentaron elevación de creatinina por otras causas siendo las más frecuentes las infecciones de vías urinarias (2%). solo uno de ellos presentó infección asociada por CMV sin rechazo agudo del injerto recibiendo tratamiento antiviral sin repercusión posterior en la creatinina basal, no se determinaron valores de sIL-2R ni MCP-1 ni se realizó biopsia renal para estos casos. Los 2 pacientes que presentaron rechazo agudo, recibieron el tratamiento habitual de acuerdo al protocolo del Departamento de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez con remisión favorable.

## **EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL Y RELACION CON NIVELES DE sIL-2R y MCP-1.**

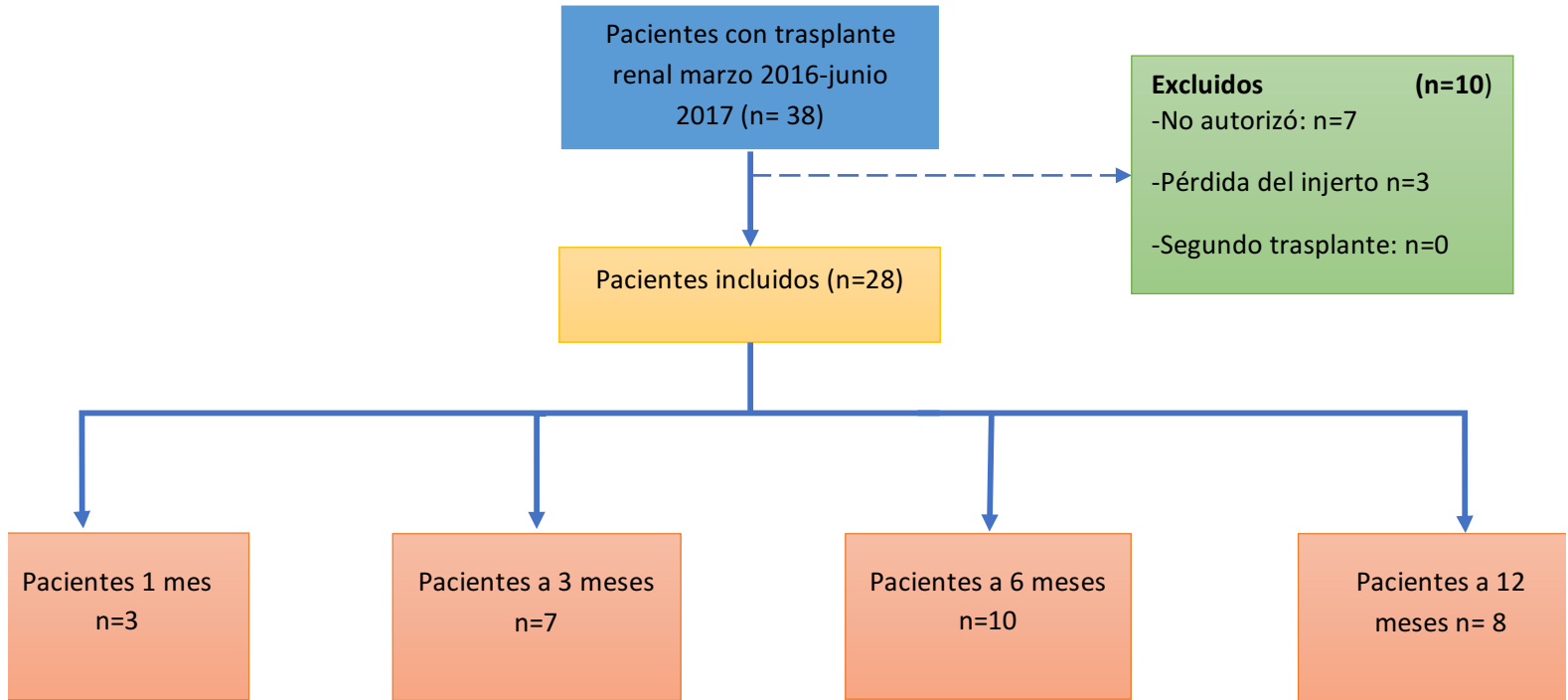
En la Tabla 2 se muestran la evolución de la creatinina sérica y la tasa de filtración glomerular en los pacientes incluidos en el estudio en el momento del trasplante, a los 6 meses y a los 12 meses posterior al trasplante renal.

Los valores basales de sIL2r plasmáticos fueron de 2421 (rango intercuartílico 1256-4657pg/ml) y de MCP-1 en orina de 532.6 (rango intercuartílico 215-1050 pg/ml), siendo ambos elevados para los valores definidos como normales de acuerdo a los datos otorgados por el fabricante y lo encontrado en la literatura.

Se compararon los valores de sIL-2R y MCP-1 con la TFG a los 6 meses posterior al trasplante a partir de hacer una correlación de Spearman en la que encontramos una correlación negativa y significativa de MCP-1 en orina, de manera que los pacientes con mayor MCP-1 basal tienen menor TFG a los 6 meses ( $r=-0.431$ ,  $p=0.042$ , Gráfico 2), mientras que los niveles de sIL2r no tuvieron relación con la TFG a los seis meses ( $r=0.228$  y  $p=0.18$ ; Gráfico 3)

No se realizaron otras mediciones ni otras pruebas estadísticas dado la cantidad de pacientes aun escasa para establecer una relación entre los niveles de sIL-2R y MCP-1 en otro momento del seguimiento.

**Gráfico 1:** Diagrama de flujo de pacientes incluidos en el estudio de marzo de 2016 a junio 2017



**Tabla 1.** Características clínicas y demográficas de la población en estudio.

CARACTERÍSTICAS	MEDIANA Y RANGO INTERCUARTÍLICO
Edad receptor ( <b>años</b> ) ( <b>mediana, RIQ</b> )	15.8 (10.5, 16.8)
Genero ( <b>n%</b> ) <b>Masculino</b> <b>Femenino</b>	13 (72.2) 5 (27.8)
Fuente del injerto ( <b>n,%</b> ) <b>Vivo</b> <b>Cadavérico</b>	9 (50) 9 (50)
Grupo sanguíneo ( <b>n,%</b> ) <b>O</b> <b>A</b> <b>B</b>	13 (72.2) 3 (16.7) 2 (11.1)
PRA n( <b>%</b> ) <b>&lt; 20%</b> <b>&gt;20%</b>	16 (88.9) 2 (11.1)
Causa de la Enfermedad Renal Crónica ( <b>n,%</b> ) <b>Glomerulopatía primaria</b> <b>Uropatía</b> <b>Miscelánea</b> <b>Indeterminada</b>	2 (11.1) 4 (22.2) 2 (11.1) 10 (55.6)
Hipertensión pre-trasplante <b>n(%)</b>	15 (83.3)
Riesgo Infección CMV <b>n(%)</b> <b>Alto</b> <b>Intermedio</b>	6 (33.3) 12 (66.7)
Tipo de TRR <b>n(%)</b> <b>Ninguna</b> <b>Hemodiálisis</b> <b>Diálisis</b> <b>Ambas</b>	2 (11.1) 9 (50.0) 2 (11.1) 7 (38.8)
Transfusiones pre-trasplante <b>n(%)</b> <b>&lt;5</b> <b>&gt;5</b>	17 (94.4) 1 (5.6)
Tiempo isquemia ( <b>h</b> ) ( <b>mediana, RIQ</b> ) <b>Fría</b>  <b>Total</b>	1 (0.64, 16.8) 1.5 (1.38, 17.8)

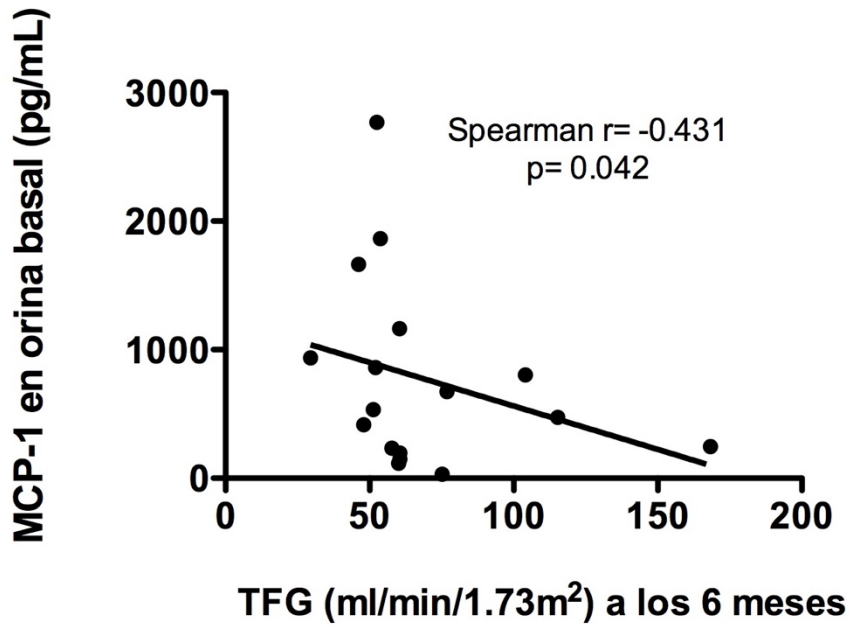
TRR: Terapia Reemplazo Renal, RIQ: Rango Intercuartílico (25, 75), n: número de pacientes, h: hora

**Tabla 2.** Evolución de los valores de función renal y biomarcadores en el postrasplante.

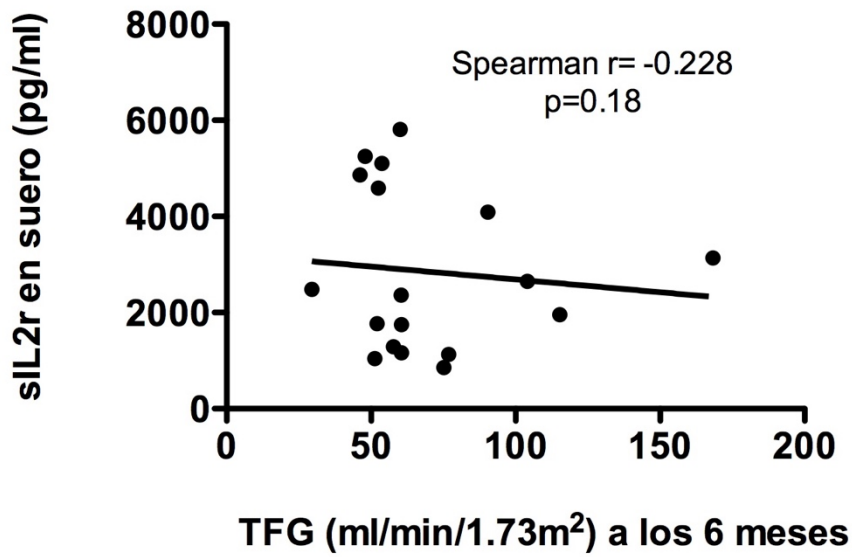
	Inicial n=28	6 meses n=18	1 año n=8
<b>Creatinina sérica mg/dl (mediana RIQ)</b>	1.1 0.75,42.2)	1.02 (0.63,1.25)	0.98 (0.70,1.23)
<b>TFG (ml/min/1.73) (mediana, RIQ)</b>	7.92 (4.77, 10.2)	60 (50, 83.6)	63.4 (52.4, 69)

RIQ: Rango Intercuartílico(25, 75),

Gráfica 2: Relación de MCP-1 en orina basal y la TFG a 6 meses



Gráfica 3: Relación sIL-2R con TFG a 6 meses



## RELACIÓN DE PACIENTES CON RECHAZO AGUDO DEL INJERTO Y VALORES PLASMATICOS DE sIL-2R Y MCP-1 EN ORINA BASALES

En el seguimiento a 6 meses de dieciocho pacientes, dos de ellos (11%) presentaron rechazo agudo demostrado por biopsia Criterios de Banff 2013 y elevación de creatinina sérica mayor a 0.3 mg/dl del valor basal. Ambos con rechazo celular 1A, sin embargo uno de los pacientes cursó con una necrosis tubular severa, y otro curso con rechazo celular 1A limitrofe.

Encontramos que los valores plasmáticos de sIL2R y MCP-1 en orina fueron mayores en el grupo de rechazo agudo (n=2) que en los que no tuvieron rechazo (n=16) (Tabla 3) pero no se pudo aplicar ninguna prueba estadística para determinar la correlación entre los biomarcadores y los casos de rechazo agudo del injerto debido al escaso número de pacientes.

**Tabla 3.** Valores plasmáticos de sIL2R y MCP-1 urinarios basales en los pacientes que presentaron o no rechazo agudo en los primeros 6 meses de seguimiento. (mediana y rango intercuartílico)

Citocina	Rechazo Agudo (n=2)	No Rechazo (n=16)
<b>sIL-2R plasmático (pg/ml)</b>	3804 (2360 -5248)	2220 (1196-4465)
<b>MCP-1 en orina (pg/ml)</b>	790 (415-1165)	532 (196-936)

sIL-2R: Receptor soluble de interlucina 2: MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1, Rango Intercuartílico(25, 75)

## DISCUSIÓN

Esta tesis forma parte de un estudio prospectivo que se realiza en el Hospital Infantil de México Federico Gómez y en el que se presentan los resultados en 18 pacientes que tienen seis meses de seguimiento y 8 pacientes con un año de seguimiento.

Los biomarcadores es una partícula que puede ser medida en forma objetiva y que proporciona información sobre el desarrollo de procesos patológicos, como es el rechazo agudo del injerto. En una revisión sistemática de varios estudios aleatorizados multicéntricos por Malone y cols. [43] describieron la eficacia y la necesidad determinar nuevos biomarcadores que determinen con antelación la

presencia de rechazo agudo del injerto, dado que la creatinina como biomarcador si bien es fácil de determinar cuenta con la desventaja de modificarse fácilmente por el estado nutricional de los pacientes, la dieta, así como también la elevación de la misma se presenta una vez que se ha instaurado la lesión al injerto lo que podría significar una lesión irreversible con afectación al pronóstico de la vida del injerto a lo largo del tiempo. [27]

En este estudio hasta el momento demostramos que los valores basales plasmáticos de sIL-2R y de MCP-1 en orina se encuentran elevados en el momento del trasplante lo que traduce un estado de inflamación persistente en los pacientes, En un estudio previo realizado en nuestro hospital por Garcia Roca y Cols[23] se encontraron que los valores de sIL-2R son más elevados previo al trasplante que a los 6 meses del postrasplante y que estos disminuían paulatinamente en el transcurso del tiempo, y a su vez encontraron que en periodos de rechazo agudo del injerto, infecciones o intoxicación farmacológica estos presentaban nuevos picos en los valores séricos de la interleucina [31]. En adultos también se ha reportado que los niveles de sIL-2R disminuyen con el tiempo en forma progresiva desde las 3 semanas posteriores al trasplante; esto de acuerdo a un estudio de Kaden y Cols [44] en el que dieron seguimiento a 103 pacientes adultos post operados de trasplante renal de donador fallecido en quienes midieron los valores pre trasplante de sIL-2R y los compararon con los valores plasmáticos de la interleucina en 72 pacientes adultos sanos. Esto concuerda con lo encontrado en nuestro estudio en el que describimos que los pacientes que tenían valores más elevados de sIL-2R previos al trasplante fueron quienes presentaron una menor TFG a los 6 meses; sin embargo en relación a los pacientes que presentaron rechazo agudo del injerto no logramos demostrar hasta este momento una asociación entre los niveles plasmáticos de sIL-2R y la TFG al momento del rechazo ya que hasta el momento tenemos un bajo número de pacientes reclutados, el número de eventos de rechazo agudo aun esta por debajo de lo esperado lo que nos limitó a realizar análisis multivariado, Curvas ROC u otras pruebas estadísticas para determinar el valor predictivo de la interleucina.

También observamos que existe una correlación negativa entre los valores basales de MCP-1 y la TFG a los seis meses siendo un hallazgo similar a lo encontrado por Joachim H.Ix et.al, [27] en el FAVORIT trial; quien describió una cohorte de 491 pacientes trasplantados de los cuales 257 presentaron rechazo agudo del injerto y en quienes midieron los valores urinarios de MCP-1 y otras tres proteínas urinarias donde describieron que los valores más elevados de MCP-1 en orina se relacionaron de manera positiva así como también tuvieron mayor riesgo de presentar fibrosis tubulointersticial y rechazo agudo y progresión a nefropatía crónica del injerto. Lo anterior va de acuerdo con nuestros hallazgos ya que los

pacientes con rechazo agudo del injerto cursaron con niveles mas elevados de MCP-1 en orina en el momento de trasplante y a los 6 meses sin embargo el número de eventos y pacientes con rechazo aun es muy escasa como para determinar una asociación y un valor predictivo de esta proteina con el rechazo, por lo que debemos completar el número estimado de la población a estudiar antes de realizar cualquier aservación. Hasta este momento la principal limitación del estudio es el número de pacientes por lo que las conclusiones y resultados de nuestro estudio pueden cambiar al completar el tamaño de muestra y prolongar el seguimiento.

## **CONCLUSIONES**

- 1) A los 6 meses post-trasplante 11% de los pacientes han presentado rechazo agudo del injerto
- 2) Los pacientes con rechazo agudo del injerto tienen valores basales plasmáticos de sIL2r y urinarios de MCP-1 mayores que aquellos sin rechazo, pero debido al tamaño de la muestra no se pudo realizar prueba estadística.
- 3) El MCP-1 urinario basal tiene una correlación negativa con la tasa de filtración glomerular a los seis meses post-trasplante.
- 4) Es necesario incluir a un mayor número de pacientes, prolongar el seguimiento y procesar las muestras para las citocinas de estudio al momento de la disfunción del injerto



## BIBLIOGRAFÍA

1. Medeiros-Domingo, M., et al., *[Renal transplantation in children]*. Rev Invest Clin, 2005. **57**(2): p. 230-6.
2. Dharnidharka, V.R., P. Fiorina, and W.E. Harmon, *Kidney transplantation in children*. N Engl J Med, 2014. **371**(6): p. 549-58.
3. Meier-Kriesche, H.U., J.D. Schold, and B. Kaplan, *Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies?* Am J Transplant, 2004. **4**(8): p. 1289-95.
4. Scornik, J.C., et al., *Alloimmunization, memory, and the interpretation of crossmatch results for renal transplantation*. Transplantation, 1992. **54**(3): p. 389-94.
5. Barama, A., et al., *Effect of recipient sensitization (peak PRA) on graft outcome in haploidentical living related kidney transplants*. Clin Transplant, 2000. **14**(3): p. 212-7.
6. Cecka, J.M., *Calculated PRA (CPRA): the new measure of sensitization for transplant candidates*. Am J Transplant. **10**(1): p. 26-9.
7. Dinarello, C.A., *Proinflammatory cytokines*. Chest, 2000. **118**(2): p. 503-8.
8. Hirschberg, R. and S. Adler, *Insulin-like growth factor system and the kidney: physiology, pathophysiology, and therapeutic implications*. Am J Kidney Dis, 1998. **31**(6): p. 901-19.
9. Fiorentino, D.F., M.W. Bond, and T.R. Mosmann, *Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones*. J Exp Med, 1989. **170**(6): p. 2081-95.
10. Wissing, K.M., et al., *A pilot trial of recombinant human interleukin-10 in kidney transplant recipients receiving OKT3 induction therapy*. Transplantation, 1997. **64**(7): p. 999-1006.
11. Mocellin, S., et al., *The dual role of IL-10*. Trends Immunol, 2003. **24**(1): p. 36-43.
12. Lauw, F.N., et al., *Proinflammatory effects of IL-10 during human endotoxemia*. J Immunol, 2000. **165**(5): p. 2783-9.
13. Niemir, Z.I., et al., *In situ upregulation of IL-10 reflects the activity of human glomerulonephritides*. Am J Kidney Dis, 1998. **32**(1): p. 80-92.
14. Nelson, B.H., *IL-2, regulatory T cells, and tolerance*. J Immunol, 2004. **172**(7): p. 3983-8.
15. Alakulppi, N.S., et al., *Cytokine gene polymorphisms and risks of acute rejection and delayed graft function after kidney transplantation*. Transplantation, 2004. **78**(10): p. 1422-8.

16. Dominguez, J., R. Harrison, and D. Contreras, *Effectiveness of different kidney exchange mechanisms to improve living donor transplantation in Chile*. *Transplant Proc.* **43**(6): p. 2283-7.
17. Sadeghi, M., et al., *Strikingly higher interleukin (IL)-1alpha, IL-1beta and soluble interleukin-1 receptor antagonist (sIL-1RA) but similar IL-2, sIL-2R, IL-3, IL-4, IL-6, sIL-6R, IL-10, tumour necrosis factor (TNF)-alpha, transforming growth factor (TGF)-beta and interferon IFN-gamma urine levels in healthy females compared to healthy males: protection against urinary tract injury?* *Clin Exp Immunol*, 2005. **142**(2): p. 312-7.
18. Rubin, L.A., et al., *Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro*. *J Immunol*, 1985. **135**(5): p. 3172-7.
19. Rubin, L.A. and D.L. Nelson, *The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application*. *Ann Intern Med*, 1990. **113**(8): p. 619-27.
20. Pogan, A., K. Sancewicz-Pach, and W. Miezyński, *[TNF-alpha and soluble interleukin-2 receptor and glomerular sclerosis in primary nephrotic syndrome in children]*. *Wiad Lek*, 2005. **58 Suppl 1**: p. 39-44.
21. Kemper, M.J., et al., *Combined T- and B-cell activation in childhood steroid-sensitive nephrotic syndrome*. *Clin Nephrol*, 2003. **60**(4): p. 242-7.
22. Ayli, M.D., et al., *Serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with primary nephrotic syndrome*. *Nephron*, 1998. **80**(3): p. 349-50.
23. Garcia-Roca, P., et al., *Serum soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R) as a marker of acute rejection in renal transplant children*. *Pediatr Transplant.* **16**(3): p. 274-9.
24. Arranz O, et al., *Serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with ANCA-associated vasculitis* *Journal of Nephrology*, 2000. **13**(1): p. 59-64.
25. Tam, F.W., et al., *Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is a marker of active renal vasculitis*. *Nephrol Dial Transplant*, 2004. **19**(11): p. 2761-8.
26. Park, M., et al., *Urinary Markers of Fibrosis and Risk of Cardiovascular Events and Death in Kidney Transplant Recipients: The FAVORIT Trial*. *Am J Transplant*, 2017.
27. Ix, J.H., et al., *Urine Fibrosis Markers and Risk of Allograft Failure in Kidney Transplant Recipients: A Case-Cohort Ancillary Study of the FAVORIT Trial*. *Am J Kidney Dis*, 2017. **69**(3): p. 410-419.
28. Yang, H., et al., *Dendritic cells with TGF-beta 1 and IL-2 differentiate naive CD4+ T cells into alloantigen-specific and allograft protective Foxp3+ regulatory T cells*. *Transplantation*, 2012. **93**(6): p. 580-8.
29. Muthukumar, T., et al., *Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients*. *N Engl J Med*, 2005. **353**(22): p. 2342-51.
30. Kotsch, K., et al., *Enhanced granulysin mRNA expression in urinary sediment in early and delayed acute renal allograft rejection*. *Transplantation*, 2004. **77**(12): p. 1866-75.
31. Garcia-Roca, P., et al., *Serum soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R) as a marker of acute rejection in renal transplant children*. *Pediatr Transplant*, 2012. **16**(3): p. 274-9.

32. Roedder, S., et al., *The kSORT assay to detect renal transplant patients at high risk for acute rejection: results of the multicenter AART study*. PLoS Med, 2014. **11**(11): p. e1001759.
33. Seron, D., et al., *[Guidelines for indicating, obtaining, processing and evaluating kidney biopsies]*. Nefrologia, 2008. **28**(4): p. 385-96.
34. Pickering, J.W. and Z.H. Endre, *The definition and detection of acute kidney injury*. J Renal Inj Prev, 2013. **3**(1): p. 21-5.
35. Hanada, K., et al., *Three cases of nephrotic syndrome associated with hematological malignancies characterized by glomerular endocapillary proliferation and massive inflammatory cell infiltration*. Clin Nephrol, 2014. **81**(4): p. 277-82.
36. Marcen, R., et al., *Outcome of cadaveric renal transplant patients treated for 10 years with cyclosporine: is chronic allograft nephropathy the major cause of late graft loss?* Transplantation, 2001. **72**(1): p. 57-62.
37. Lee, P.C. and M. Ozawa, *Reappraisal of HLA antibody analysis and crossmatching in kidney transplantation*. Clin Transpl, 2007: p. 219-26.
38. Nankivell, B.J., et al., *The natural history of chronic allograft nephropathy*. N Engl J Med, 2003. **349**(24): p. 2326-33.
39. Zappitelli, M., et al., *Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children*. Am J Kidney Dis, 2006. **48**(2): p. 221-30.
40. Tonshoff, B. and B. Hocker, *Treatment strategies in pediatric solid organ transplant recipients with calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity*. Pediatr Transplant, 2006. **10**(6): p. 721-9.
41. Sharma, A.P., et al., *Diagnostic accuracy of cystatin C-based eGFR equations at different GFR levels in children*. Clin J Am Soc Nephrol, 2011. **6**(7): p. 1599-608.
42. Arce, J., et al., *[Renal retransplantation: risk factors and results]*. Actas Urol Esp, 2011. **35**(1): p. 44-50.
43. Dharnidharka, V.R. and A. Malone, *Biomarkers to detect rejection after kidney transplantation*. Pediatr Nephrol, 2017.
44. Kaden, J., B. Schutze, and G. May, *A critical analysis of soluble interleukin-2 receptor levels in kidney allograft recipients*. Transpl Int, 1996. **9 Suppl 1**: p. S63-7.

## **Anexo 1**

### **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México D.F. a \_\_\_\_\_ del 201\_\_.

Titulo del estudio: **Valor pronóstico de sIL-2R y la expresión génica de IL-10, en sangre periférica con la disfunción del injerto y biopsia renal en niños mexicanos con trasplante renal. Seguimiento a un año post-trasplante**

Queremos invitarlo a usted y a su hijo(a) a participar en este estudio de investigación que se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Su participación es voluntaria. Usted puede decidir que su hijo(a) no participe o puede retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso no perderá de ninguna forma la atención médica en el Hospital.

La información que se genere a partir de este estudio, podrá proporcionar información que ayude en el futuro inmediato a su hijo (a) y a otros niños con la misma enfermedad de su hijo(a).

Antes de decidir participar, lea con cuidado el presente documento y tómese el tiempo que requiera para realizar cualquier pregunta o discutir este estudio con cualquier persona que participe en la investigación, con su familia o con cualquier otro profesional de la salud.

#### **Finalidad del estudio**

El rechazo al injerto es un fenómeno complejo que involucra la semejanza entre su hijo(a) y la persona que le donará el riñón y los procesos de defensa (el sistema inmunológico) presentes en el receptor (su hijo o hija). Hay sustancias producidas en el receptor que pueden ayudar al riñón trasplantado y otras inducir el rechazo. Para conocer con seguridad el estado de salud del riñón se requiere de tomar un pedazo del riñón trasplantado (biopsia renal).

#### **Objetivo del estudio**

El fin de este estudio es saber si con una prueba de sangre se puede hacer el diagnóstico oportuno del rechazo.

## **Procedimiento del estudio**

Si usted acepta que su hijo(a) participe en este estudio se consideran 6 visitas en el transcurso de un año, en las que se buscará la presencia de sustancias presentes en la sangre, que son producidas en el rechazo.

Las visitas de estudio son: al momento del trasplante (cuando está hospitalizado), en el día 3 y 7, así como en los meses 1,3,6, y 12. Si se sospecha rechazo en cualquier momento del primer año se tomarán muestras adicionales. En cada visita se tomará una muestra de sangre de aproximadamente una cucharadita, a través de una punción en el brazo, y una muestra de orina.

Para conocer el estado de salud del riñón, a su hijo(a) se harán 2 biopsias de riñón, la primera al momento del trasplante, que permitirá saber en qué estado se encuentra el riñón que se le está poniendo a su hijo(a) y otra al año del trasplante, que permite saber si hay algún daño que no ha aparecido en los exámenes de sangre.

## **Riesgos y molestias.**

Las muestras de sangre se tomarán por punción venosa y su hijo (a) puede tener dolor en el sitio de la punción; este dolor cede en los siguientes minutos.

La primera biopsia se realiza en el quirófano antes de que se coloque el riñón en su hijo(a). Para realizar la biopsia del año es necesario hospitalizar a su hijo por un día, se hace bajo sedación y con anestesia loca y el corte se realiza guiado por ultrasonido. Después de la biopsia renal puede haber sangre en la orina, dolor en el sitio de la punción, y en casos extremos la pérdida del injerto.

## **Beneficios**

La biopsia de riñón permite saber con seguridad en qué condiciones se encuentra el tejido y si existe rechazo o no. El encontrar una prueba que permita diagnosticar el rechazo sin necesidad de biopsia renal sería muy útil para el tratamiento de los pacientes con trasplante de riñón.

## **Procedimientos alternativos y costos**

La obtención de las muestras de sangre y orina en las visitas de estudio así como las biopsias al momento del trasplante y a los 12 meses no tendrán costo para usted.

### **Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad**

Los médicos que atienden a su hijo(a) estarán en todo momento dispuestos a responder a todas sus preguntas e inquietudes respecto a los resultados del estudio que se le realizarán a su hijo(a).

La información que nos proporcione y la que resulte de las pruebas del estudio, será manejada para los fines de la investigación, sin perder la confidencialidad. Los médicos de su hijo(a) tendrán conocimiento de los resultados para mejorar en lo posible el tratamiento de su hijo(a).

### **Normas relacionadas con la investigación**

Cualquier efecto colateral que se derive de la toma de las muestras de sangre y/o de las biopsias será atendido prontamente con los recursos del Hospital.

### **Problemas y preguntas**

Si surgiera algún problema o tuviese usted alguna pregunta con respecto a este estudio, a sus derechos como participante en el estudio, podrá comunicarse con la Dra. Mara Medeiros Domingo (Jefa del Laboratorio de Investigación en Nefrología), Dr. Saúl Valverde Rosas (Jefe de Servicio del Departamento de Nefrología) y la Dra. en C. María Inés del Pilar García Roca (Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo) del Hospital Infantil de México Federico Gómez tel. 5228-9917 ext 4410.

### **Documento de consentimiento**

Usted puede decidir no participar en el estudio o bien decidir retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso, no perderá ninguna prestación a la que tenga derecho. Le sugerimos que conserve copia de este documento para consultarlo posteriormente.

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir y hacer preguntas. Por este medio otorgo mi consentimiento para que mi hijo(a) participe en el estudio.

**Nombre del Paciente:** \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_

**Relación con el paciente** Padre ( ) Madre ( ) o tutor ( )

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

**Testigo 1**

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

**Testigo 2**

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

## Anexo 2

### CARTA DE ASENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

México D.F. a \_\_\_\_\_ del 201\_\_.

Titulo del estudio: **Valor pronóstico de sIL-2R y la expresión génica de IL-10, en sangre periférica con la disfunción del injerto y biopsia renal en niños mexicanos con trasplante renal. Seguimiento a un año post-trasplante**

Queremos invitarte a participar en este estudio de investigación que se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tú puedes decidir participar o no y puedes retirarte del estudio en cualquier momento. En cualquiera que sea tu deseo no perderás tu derecho a la atención médica en el Hospital. La información que se genere a partir de este estudio, podrá ayudarte a ti y a otros niños que como tu, tienen la misma enfermedad. Antes de decidir participar, lee con cuidado el presente documento y tómate el tiempo que quieras para realizar cualquier pregunta.

El rechazo de tu riñón es un fenómeno complejo que involucra, la semejanza entre tú y la persona que te donará el riñón, y son los procesos de defensa (el sistema inmunológico) presentes en ti, los que condicionan la sobrevida del riñón que te donarán. En tu organismo se producen sustancias que pueden impedir o producir repulsión al riñón que te darán. La producción y función de estas sustancias dependerá del tratamiento para evitar ese rechazo. Cuando te trasplanten, si tú estas de acuerdo, se tomará un pedacito de tu riñón a ese procedimiento se le llama biopsia renal y sirve para determinar el estado de salud de tu riñón.

Si tú aceptas, algunas veces vamos a tomarte una muestra de sangre y dos veces te haremos una biopsia, para evaluar el estado de salud y funcionalidad de tu riñón, estaremos vigilando la función de tu riñón por un año. Al tomar las muestras de sangre y las biopsias pueden doler, pero pronto pasará. Habrá personal del Hospital contigo en los momentos de la toma de las muestras. Puedes hacer todas las preguntas relacionadas con este estudio en cualquier momento.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio

Si \_\_\_\_ No \_\_\_\_



**Nombre del Paciente:** \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_

**Relación con el paciente** Padre ( ) Madre ( ) o tutor ( )

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

**Testigo 1**

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

**Testigo 2**

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

Dirección: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Relación con el paciente: \_\_\_\_\_