



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

***“INMUNOGENÉTICA, EVALUACIÓN Y MANEJO PREVIO AL
TRANSPLANTE RENAL”***

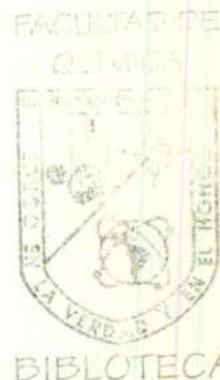
TESINA TEÓRICA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

SILVIA EDITH RAMÍREZ MARTÍNEZ

QUERÉTARO, QRO. 1996



.. Adq. J50453

No. Titulo 200 QFB

Clas. TS 612-11822

R 173i

ASESORA DE TESIS :

M. en C. Leticia de la Isla Herrera

SINODALES :

Q.B. Sergio Pacheco Hernández

Q.B. Patricia Villalobos

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Agradezco primeramente a Dios por las innumerables bendiciones que me han sido dadas; entre ellas, una muy importante en mi existencia: mis padres, a quienes dedico este trabajo con todo mi amor, pues a ellos debo gran parte de lo que soy.

También se lo dedico a mis hermanos: a Pepe, con el deseo de motivarlo a seguir adelante en sus estudios, y a Eduardo por toda su ayuda como verdadero amigo y hermano, y sobre todo por su contribución en este trabajo, gracias a sus conocimientos computacionales.

A mi tía Lupe, porque durante mi carrera universitaria me brindo su apoyo y cariño incondicional.

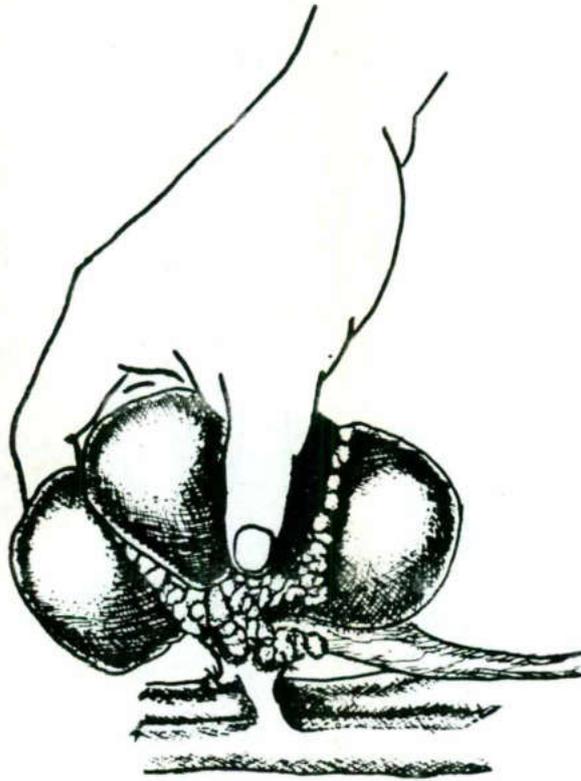
*A mis maestros:
A la M. en C. Lety de la Isla, por su manera tan cálida al apoyarme y asesorarme; a la Q. B. Paty Villalobos, por su asesoría como sinodal y por sus consejos como académica y amiga; y, a mi amigo y profesor el Q.B. Sergio Pacheco, quien me impulsó y ayudó entre otras cosas, a realizar mis prácticas profesionales en el INNSZ.*

*A mis queridas amigas: Gris, Cris y Lucy,
con quienes viví y compartí momentos muy gratos.*

*Agradezco a mi amigo Jesús Kazuo por su
valiosa asesoría; y a todos mis amigos
del INNSZ que contribuyeron de alguna
manera a que este trabajo fuera posible.*

*Agradezco al Dr. Julio Granados
por permitirme trabajar con su equipo
y por compartir sus conocimientos
y su amistad.*

*Me dedico yo esta TESINA, porque más que
un trabajo, tiene un significado muy especial
en mi vida, pues es la terminación de una
etapa de decisiones y logros importantes,
y el comienzo de otra de la que espero mucho
éxito en todos los aspectos de mi vida.*



*“Lo importante no es lo que hicieron de nosotros,
sino lo que nosotros hacemos con eso que hicieron de nosotros”*

Jean Paul Sartre



RESUMEN

El trasplante de riñón es un procedimiento quirúrgico que se utiliza cuando existe pérdida total de la función renal.

El primer trasplante renal realizado en México fue en el año de 1963, a partir de un donador vivo, en el Hospital General del Centro Médico Nacional.

Debido a que existe un incremento en la morbi-mortalidad por enfermedades crónico degenerativas, tales como la diabetes mellitus, la glomerulonefritis y la hipertensión arterial, las cuales son las principales causas de insuficiencia renal crónica, llevan a la necesidad del trasplante renal. Es importante conocer todos los aspectos básicos que son indispensables para asegurar su éxito y aumentar la supervivencia del injerto a largo plazo.

En este trabajo se describen las bases de los mecanismos inmunológicos, la estructura de las moléculas clase I y II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), los genes que las codifican, la manera como se heredan, y los antígenos conocidos hasta la fecha. Además se mencionan las indicaciones y contraindicaciones, los acontecimientos en el preoperatorio, transoperatorio y en el postoperatorio inmediato, tanto en el receptor como en el donador (vivo o cadavérico) en los cuales se incluyen aspectos legales, éticos, psicológicos y sociales; así como también se exponen los distintos métodos de inmunosupresión administrados durante la etapa preoperatoria y en el momento quirúrgico del trasplante. Por último, se describe la técnica de linfocitotoxicidad propuesta por Terasaki y McClelland en 1964, utilizada para la tipificación de moléculas de HLA clase I y II, así como en la prueba cruzada donador-receptor; las cuales, junto con la determinación del grupo sanguíneo ABO, proporcionan la información suficiente para establecer la compatibilidad antigénica entre el donador y el receptor de un trasplante renal, contribuyendo con esto a mejorar la sobrevida del aloinjerto.



ÍNDICE

	Página
I. Antecedentes	
I.1. Historia de la inmunología	1
I.2. Historia del trasplante de riñón	4
II. Generalidades	
II.1. El sistema inmune	6
II.2. Sistema ABO	21
II.3. El complejo principal de histocompatibilidad (MHC)	24
III. Trasplante de riñón	
III.1. Indicaciones	39
III.2. Contraindicaciones	41
III.3. Evaluación y cuidados del receptor	45
III.4. Evaluación y cuidados del donador	50
III.5. Manejo preoperatorio del receptor	56
III.6. Manejo preoperatorio del donador	62
III.7. Transoperatorio	69
III.8. Postoperatorio inmediato	74
IV. Inmunosupresores utilizados en el trasplante renal	
IV.1. Mecanismos de acción de los fármacos inmunosupresores	77
IV.2. Clasificación de inmunosupresores	79
IV.3. Ciclosporina A	80
IV.4. Esteroides	83
IV.5. Azatioprina	85
IV.6. Ciclofosfamida	86
IV.7. Suero antilinfocítico	87
IV.8. Anticuerpos monoclonales	88
IV.9. FK-506	88
IV.10. Péptidos sintéticos	89
IV.11. Irradiación total del tejido linfoide	90
IV.12. Irradiación del injerto	90



V. Pruebas de histocompatibilidad

V.1. Tipificación de HLA clase I y II

93

V.2. Prueba cruzada

99

VI. Comentarios

102

VII. Conclusiones

104

VIII. Bibliografía

105

Apéndice

110



I. ANTECEDENTES

HISTORIA DE LA INMUNOLOGÍA

La inmunología se inició como una rama de la microbiología; se desarrolló a partir de los estudios de las enfermedades infecciosas y las respuestas del organismo hacia ellas.

Dos siglos más tarde, Edward Jenner extendió el concepto de contagio al estudio de la inmunidad producida en el receptor. Esto fue el inicio de la inmunología. En 1798, Jenner describió y realizó la **variolización**, desarrollándose la primer vacuna contra la viruela. Entre 1879 y 1881, Pasteur desarrolló las primeras tres vacunas atenuadas (después de la viruela vacuna); éstas fueron para el cólera aviar, carbunco y rabia.

En 1883, Metchnikoff observó la fagocitosis de esporas de hongo por leucocitos, y lanzó la idea de que la inmunidad era debida a los leucocitos sanguíneos. En 1894, Bordet descubrió el complemento. La teoría de la cadena lateral fue propuesta por Ehrlich en 1898; de acuerdo a esta teoría, las células poseían en su superficie una amplia variedad de cadenas laterales (llamadas receptores para el antígeno) que se usaban para atraer nutrientes hacia la célula. Cuando las sustancias tóxicas bloqueaban una de estas cadenas laterales a través de una afinidad accidental, la célula respondía produciendo grandes cantidades de esa cadena lateral en particular, algunas de las cuales salían hacia la sangre y funcionaban como los anticuerpos circulantes.²¹

En 1900, Karl Landsteiner descubrió los grupos sanguíneos y sus aglutininas correspondientes; y en 1931 sugirió que éstos podrían intervenir en la aceptación o el rechazo de otros tejidos transplantados.²⁴

En 1903, Sir Almuth Wrigth reportó que los anticuerpos podían ayudar en el proceso de la fagocitosis. Wrigth denominó "opsoninas" a estos anticuerpos. Gradualmente se llegó a la conclusión de que los anticuerpos podrían tener efectos nocivos así como benéficos, y podían producir hipersensibilidad. El término **anafilaxis** fue utilizado por Richet y Portier en 1902, para referirse al estado de choque inducido por una segunda inyección de antígeno.

En 1936, Peter Gorer descubrió los antígenos de histocompatibilidad en ratones, los cuales denominó H-2.



En 1939, Tiselius y Kabat demostraron que los anticuerpos son gammaglobulinas, y en 1940, Pauling propuso la teoría de plegado variable para la formación de anticuerpos. En 1942, Coons demostró la presencia de antígenos y anticuerpos dentro de las células mediante la técnica de inmunofluorescencia; y Chase y Lansteiner reportaron que la hipersensibilidad tardía podía transferirse por células, pero no por suero.

En 1945, Medawar demostró que el rechazo de un injerto es de naturaleza inmunológica; y Owen descubrió quimeras sanguíneas en reses gemelas.

En 1948, Fagraeus demostró que los anticuerpos se fabricaban en células plasmáticas. En 1949, Burnet y Fenner publicaron su teoría enzimática adaptativa, para la formación de anticuerpos. Ellos también propusieron el concepto de “marcador de lo propio” que fue la primera explicación formal de tolerancia a lo propio.

En 1952, Jean Daussett descubrió el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en el humano.

En 1955, Jerne propuso su teoría de selección natural para la formación de anticuerpos. La teoría de selección natural establecida por Burnet en 1957, ha sido llamada **teoría de la selección clonal**.

Entre 1960 y 1970 se realizaron avances en la identificación, separación y estructura de componentes del complemento, interleucinas y receptores celulares, aplicando la tecnología de los primeros anticuerpos monoclonales. En 1964, Terasaki y McClelland implementaron la técnica de linfocitotoxicidad para la tipificación de antígenos de HLA clase I y II. En 1966, Claman, Chaperon y Triplett, descubrieron la presencia de cooperación entre células B y T.

En 1968, McDevit y Tyan demostraron que los genes de la respuesta inmunitaria estaban unidos a los genes del MHC. Seis años más tarde, Doherty y Zinkernagel reportaron que el reconocimiento de los antígenos por la célula T, estaba restringido por las moléculas del MHC. En 1978, Tonegawa y col. demostraron el rearreglo de los genes de inmunoglobulina. La identificación de los genes para el receptor de la célula T, por Davis y col., se realizó en 1984. Durante esa época, también se elucidaron los pasos requeridos para el procesamiento y presentación del antígeno, y las reacciones químicas necesarias para la activación de los linfocitos por dicho antígeno.



En el cuadro 1.1 se resume la historia de la inmunología.²¹

Cuadro 1.1. Historia de la inmunología

1798	Edward Jenner <i>Vacunación con viruela vacuna</i>	1952	Jean Daussett <i>Descubrimiento del MHC en el humano</i>
1880	Louis Pasteur <i>Vacunas atenuadas</i>	1955	Niels K. Jerne <i>Teoría de la selección natural</i>
1883	Elie I. I. Metchnikoff <i>Teoría fagocitaria</i>	1957	David W. Talmage y F. Macfarlane Burnet <i>Teorías de la selección celular</i>
1894	Jules J. B. V. Bordet <i>Complemento</i>	1959	Rodney R. Porter y Gerald M. Edelman <i>Estructura de los anticuerpos</i>
1898	Paul Ehrlich <i>Teoría de la cadena lateral</i>	1964	Terasaki y McClelland <i>Determinación de antígenos de HLA clase I y II, por la técnica de linfocitotoxicidad</i>
1900	Karl Landsteiner <i>Estructura de los antígenos de grupo sanguíneo y anticuerpos</i>	1966	Henry N. Claman y col. <i>Colaboración de células T y B</i>
1936	Peter Gorer <i>Descubrimiento del H-2 en ratones</i>	1968	Hugh O. Mc Devitt y col. <i>Unión de los genes de la respuesta inmune con los genes del MHC</i>
1939	Arne Wilhelm Tiselius y Elvin A. <i>Identidad de los anticuerpos con gammaglobulina</i>	1978	Susumu Tonegawa <i>Rearreglo de los genes de inmunoglobulina</i>
1945	Medawar <i>El rechazo de un injerto es de naturaleza inmunológica</i>		
	Ray D. Owen <i>Quimeras sanguíneas en reses gemelas.</i>		
1948	Astrid E. Fagraeus <i>Anticuerpos en células plasmáticas</i>		



HISTORIA DEL TRASPLANTE DE RIÑÓN

En 1936, Voronoy, un cirujano ruso reportó el primer aloinjerto renal clínico de donador cadavérico; había incompatibilidad de grupos sanguíneos y el paciente murió con mínima función renal.

El primer trasplante exitoso de riñón efectuado entre gemelos homocigotos fue en el año de 1954, por Merrill en el Peter Bent Brigham de Boston, Mass. EUA.¹² Poco después se demostró que era posible hacerlo entre hermanos no idénticos con sólo modificar la reacción inmunitaria del receptor, empleando radiación ionizante.⁷

En la década de los 60's, el concepto de muerte cerebral y la donación de órganos con fines terapéuticos fue aceptado por las autoridades médicas, legales, éticas, etc. de EUA y otros países, lo cual abrió las puertas para el desarrollo de este campo.¹²

La era de los trasplantes en México se inició el 23 de octubre de 1963 en el Hospital General del Centro Médico Nacional, en el cual se conjuntaron los siguientes médicos: Ortiz Quezada, Exaire Mouret y Quijano Narezo, quienes formaron el primer Comité de Trasplante y realizaron el primer trasplante de riñón obtenido de donador vivo, resultando exitoso a pesar del uso de 6-mercaptopurina como inmunosupresor. En 1964 se llevó a cabo en la misma institución el segundo trasplante renal, con la diferencia de un donador cadavérico, iniciándose así los primeros problemas legales que se hicieron más agudos en 1970.

En 1967 se crearon nuevos grupos de trasplantes: en el Instituto Nacional de Cardiología, el año siguiente en el Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán", en el Hospital Infantil de México, posteriormente en el Hospital Central Militar, en el DIF, en el Hospital 20 de Noviembre y en el interior del país.

La presencia de rechazo por la falta de inmunosupresores frenó en la época de los 70's los trasplantes, pero posterior a la aparición de la ciclosporina A nuevamente toman auge diferentes áreas.¹³



En 1984 entró en vigencia la Ley General de Salud que en su título XIV dejó asentado el concepto de muerte cerebral y las bases para la realización de trasplantes.¹⁰

En 1985 se fundó el Registro Nacional de Trasplantes, cuya función ha sido legislar y promover los trasplantes de órganos en México.¹⁷ A partir de enero del mismo año se constituyó oficialmente el programa Nacional de Trasplantes, cuya sede se acordó sería el Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán".¹⁹

En 1989 la Secretaría de Salud firmó convenios con la Procuraduría del Distrito Federal y el DDF, lo que promovió e impulsó el trasplante de órganos a través del Ministerio Público, ya que es éste el que autoriza por escrito la disposición de los mismos, en los cadáveres que nadie reclame, previa práctica de la necropsia de ley y que no sea necesario para dictámenes legales periciales.

Los trasplantes de riñón se hacen en forma cotidiana en hospitales de 3er. nivel.¹⁰ En la República Mexicana existen actualmente más de 70 centros de trasplante renal. El marco jurídico que regula la práctica de trasplantes en México lo integran: La Ley General de Salud; El Reglamento en Materia de Control Sanitario de la Disposición de Organos y Tejidos de seres humanos y la Norma Técnica No. 323 para la Disposición de Organos y Tejidos de seres humanos con fines terapéuticos.¹⁴

El trasplante ha tenido un pasado difícil, un presente distinguido y deberá tener un futuro mejor. Habrá que cambiar el concepto hacia una nueva moral "biológica", de mantener el debido respeto a los muertos considerándolos multidonadores de órganos que necesitan los vivos.¹⁰



II. GENERALIDADES

EL SISTEMA INMUNE

La inmunología es la ciencia que estudia los mecanismos de mantenimiento de la integridad y personalidad biológica del individuo. Este mantenimiento es el objetivo de un complejo sistema genético, orgánico y fisiológico (el sistema inmune), a través de la respuesta inmune y con diversas consecuencias fisiológicas y aún patológicas.

El concepto de inmunidad incluye el estado resultante y el proceso de la respuesta inmune, así como el conjunto de factores específicos e inespecíficos que intervienen en ella.

La respuesta inmune se pone en marcha de forma indiscriminada frente a cualquier sustancia extraña, llamada inmunógeno (*respuesta inmune inespecífica*) o determinadas sustancias, denominadas antígenos, que son específicamente reconocidas como extrañas por las células linfoides (*respuesta inmune específica*). La capacidad de la respuesta específica está sometida a una compleja regulación genética, mediada por el MHC.

Una característica de la respuesta específica destaca la capacidad de distinción entre lo propio y lo extraño, que el organismo aprende durante la vida fetal, eliminando las clonas celulares capaces de reconocer lo propio (*tolerancia natural*). En circunstancias patológicas puede fallar este reconocimiento, y el sistema inmune considera como extraños a constituyentes propios (*autoinmunidad*).

Por otra parte, la respuesta inmune representa una especificidad, esta cualidad permite diferenciar entre los distintos determinantes antigénicos o *epítomos*, reconocidos por el sistema, que, además guarda la memoria del primer contacto con un determinado antígeno.²²

El sistema inmune debe ser capaz de relacionarse con patógenos intracelulares tales como virus, algunas bacterias y parásitos protozoarios, además de patógenos extracelulares y sus toxinas, incluyendo a muchas bacterias, parásitos multicelulares y virus libres. En general, los linfocitos T son los responsables del reconocimiento de antígenos, mientras que los



anticuerpos (producidos por linfocitos B), en asociación con células fagocíticas y el sistema del complemento, tratan con patógenos celulares y antígenos.²⁰

Las células involucradas en la respuesta inmune se organizan en órganos y tejidos para realizar sus funciones. Estas estructuras se conocen como sistema linfoide, el cual está integrado por la médula ósea, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos, las amígdalas y las adenoides, así como el tejido linfoide asociado al intestino (GALT), el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) y el tejido linfoide asociado con la piel (SALT). El timo produce células T, y la médula ósea células B. Los órganos y tejidos linfoides secundarios contienen células T y B maduras y otras células accesorias. La médula ósea es un órgano linfoide secundario en los adultos. Los ganglios linfáticos se distribuyen por todo el cuerpo y habitualmente se encuentran en las uniones de los vasos linfáticos. El grupo de ganglios linfáticos, incluyendo el tejido linfoide amigdalario y adenoideo, del área del cuello y la faringe, se conocen como anillo de tejido linfoide de Waldeyer. Las células linfoides del bazo responden a los antígenos transportados por la sangre. Las Placas de Peyer son unas masas no encapsuladas de tejido linfoide que se hallan presentes en el intestino delgado.²⁴

FUNCIONES DEL SISTEMA INMUNE

Defensa: Resistencia a la infección por microorganismos.

Homeostasia: Supresión de componentes propios gastados y deteriorados.

Vigilancia: Percepción y destrucción de células mutantes.²³

INMUNIDAD INNATA Y ADAPTATIVA

Las dos divisiones funcionales del sistema inmune son: el sistema innato (inespecífico) y el adaptativo (específico), actuando conjuntamente, siendo la inmunidad innata la primer línea de defensa, la cual está presente desde el nacimiento. Si estas defensas no funcionan, el sistema adaptativo es activado y produce una respuesta específica contra cada agente infeccioso, lo cual normalmente elimina la infección. Las dos características clave de la respuesta adaptativa son: especificidad y memoria. Ambos sistemas inmunes innato y adaptativo consisten en una variedad de células y factores solubles los cuales están distribuidos en todo el cuerpo humano. Ambas células y factores solubles pueden activarse tanto en la inmunidad innata, como en la inmunidad adaptativa (cuadro 2.1).²¹ La inmunidad innata también es llamada inmunidad natural y la inmunidad adaptativa también es conocida



como inmunidad adquirida. La inmunidad natural o innata consiste de barreras físicas tales como la piel y mucosas, ciertas enzimas y células fagocíticas. La inmunidad adquirida o adaptativa se basa en la respuesta de los linfocitos T y B.

Cuadro 2.1. Comparación entre la inmunidad innata y adaptativa

	Inmunidad innata (inespecífica)	Inmunidad adaptativa (específica)
Barreras físicas	Piel y mucosas	Ninguna
Factores solubles	Enzimas (p. ej. lisozima), complemento, proteínas, de fase aguda (p. ej. CRP), interferones alfa y beta.	Anticuerpos
Células	Macrófago, PMN, eosinófilo, células NK.	Linfocitos T y B
Discriminación de lo propio y lo ajeno	Si	Si
Especificidad	No	Si
Memoria	No	Si

CLASIFICACIÓN DE LA INMUNIDAD ADAPTATIVA

La inmunidad adquirida o adaptativa se activa únicamente por el contacto con el antígeno. Este tipo de inmunidad tiene dos subclases:



Pasiva: Esta inmunidad puede resultar de transferir suero (anticuerpos), toxinas o productos obtenidos de células sensibilizadas (**inmunidad adquirida pasiva artificial**);²³ o bien, a través de la placenta, calostro o leche materna (**inmunidad adquirida pasiva natural**).²⁵ El comienzo de su acción es inmediato.

Activa: La adquisición de la inmunidad adquirida activa depende de la participación de los tejidos y células inmunocompetentes después del encuentro con un antígeno o un inmunógeno. La duración de la inmunidad activa es relativamente larga. Este tipo de inmunidad resulta por infección (**inmunidad adquirida activa natural**),²⁶ o mediante el empleo de vacunas (**inmunidad adquirida activa artificial**).²⁵

FUNCIONES DEL SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO

Las funciones del sistema inmune adaptativo son: el reconocimiento de antígenos o inmunógenos, y la ejecución de una apropiada respuesta inmune para su eliminación. La gran variedad de patógenos tienen diferentes formas de ciclos de vida, pero el sistema inmune puede responder a todos estos cambios. Existen dos tipos principales de respuestas inmunes: la respuesta inmune contra patógenos intracelulares, y la respuesta inmune contra microorganismos extracelulares. El sistema inmune ha desarrollado dos maneras para reconocer antígenos: la producción de anticuerpos por linfocitos B, los cuales reconocen a los antígenos extracelulares; y linfocitos T, los cuales reconocen antígenos intracelulares presentados sobre la superficie de células distribuidas en todo el cuerpo. Los actores principales de la inmunidad adaptativa son las células presentadoras de antígenos (APC), los linfocitos B y los linfocitos T, los cuales producen sustancias solubles denominadas interleucinas o citocinas.²¹ Los anticuerpos generalmente reconocen antígenos intactos, mientras que los linfocitos T reconocen sólo antígenos fragmentados, los cuales son presentados en asociación con moléculas del MHC. Esta división corresponde a la separación de la inmunología humoral de la celular.⁸

CINÉTICA DE LA RESPUESTA INMUNE

El primer encuentro de un individuo con un inmunógeno se denomina **evento de imprimación** y produce una respuesta de producción de anticuerpos relativamente débil y de vida corta, denominada **respuesta inmunitaria primaria**. Este tipo de respuesta se divide en varias fases. La **fase de inducción o latente**, que es el tiempo transcurrido entre el contacto con el inmunógeno y la biosíntesis de anticuerpos que, en promedio, dura una semana en humanos. Durante este periodo, ocurre la activación de los linfocitos T y B. La **fase**



exponencial marca un rápido incremento en la cantidad de anticuerpos que son producidos. Cuando el ritmo de síntesis y de catabolia son los mismos, la concentración sérica de anticuerpo permanece constante (**fase de equilibrio**). Finalmente, el nivel de anticuerpo declina de forma gradual (**fase de declinación**) al terminar la síntesis de nuevos anticuerpos. La respuesta primaria se caracteriza por el predominio de anticuerpo de clase IgM, el anticuerpo de clase IgG aparece más tarde.

Después de la segunda exposición al mismo inmunógeno semanas, meses o incluso años, hay una respuesta cualitativamente igual pero cuantitativamente diferente a la respuesta primaria. En la **respuesta secundaria o anamnésica**, está acortado el periodo de latencia, y los niveles de anticuerpo alcanzan rápidamente un nivel de equilibrio más alto, y permanecen detectables en el suero durante periodos mucho más largos. Las células T y B de memoria, generadas durante la respuesta primaria, son responsables de una cinética más rápida, de mayor intensidad y duración de las respuestas secundarias. Fundamento del modo de acción de las vacunas. (Fig. 2.2)²¹

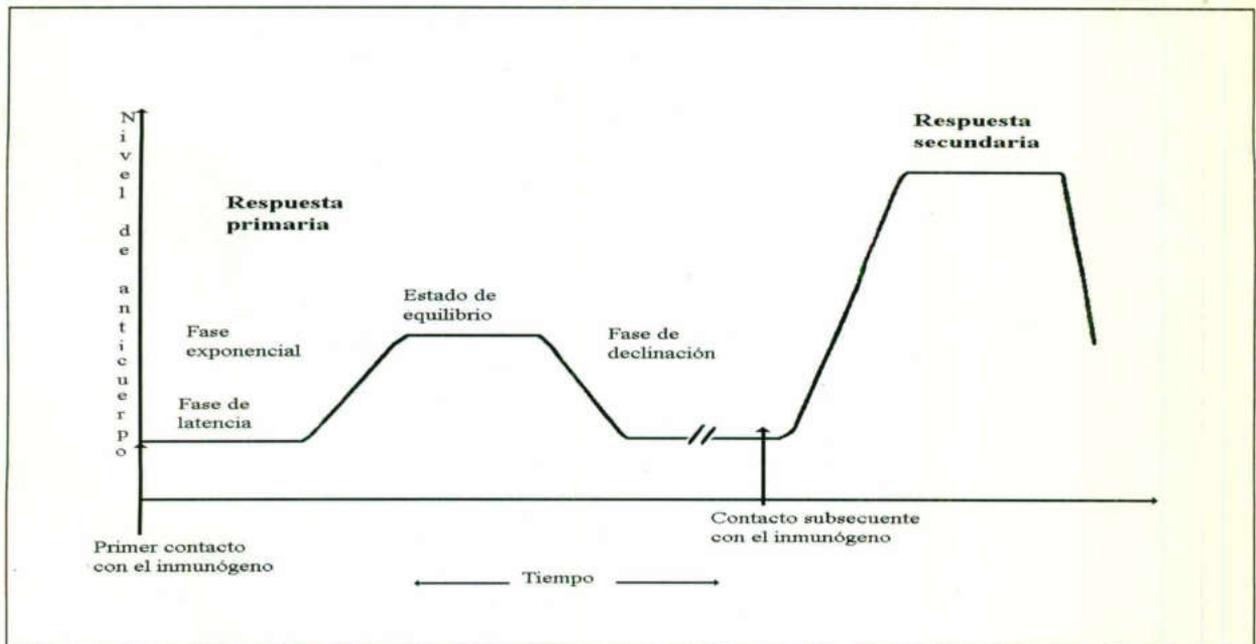


Fig. 2.2. Respuestas inmunes primaria y secundaria.

TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

La tolerancia inmunológica es el bloqueo en la respuesta inmune inducido por el antígeno durante el desarrollo, proliferación o diferenciación de las clonas de linfocitos



específicos de éste. Resulta de la interacción del antígeno con los receptores presentes en los linfocitos y culmina con la eliminación de las células o con su incapacidad para responder.

Los mecanismos básicos para crear tolerancia inmunológica son similares a los mecanismos para generar inmunidad; de tal manera que la respuesta tolerante tiene las mismas características de la respuesta inmune, como son especificidad, diversidad, memoria, inducción, regulación autónoma y transferencia.³

ELEMENTOS DEL SISTEMA INMUNE

Sistema CD. Los leucocitos son distinguidos de acuerdo a grupos de moléculas que expresan en su superficie. La mayoría de moléculas han sido clasificadas dentro del "sistema CD", el cual define más de 130 moléculas de superficie celular diferenciables por anticuerpos monoclonales. Estas moléculas pueden ser de linaje específico o estar compartidas entre los diferentes tipos de células. Algunas aparecen sólo en un estado particular del desarrollo celular, y otras sólo sobre células activadas. En el cuadro 2.3²⁰ aparecen los marcadores más comunes en las células del sistema inmune.

Cuadro 2.3. Principales marcadores CD

Célula	Marcador	Función
Células T	CD2	Adhesión y activación no específica
T _H	CD3	Parte del receptor de la célula T para el antígeno (TCR)
	La mayoría CD4	Receptor de las moléculas clase II
TC	La mayoría CD8	Receptor de las moléculas clase I del MHC.
Células B	CD19, CD20	Receptor de diferenciación de marcadores para el antígeno.
Fagocitos mononucleares	CD64	Receptor de anticuerpo (FcγR1)
	CD11b	Receptor de complemento (CR3)
Células T activadas	CD25	Receptor de interleucina-2 (IL-2R)
Células B y macrófagos	CD71	Receptor de transferrina.



Células T. Son las responsables del reconocimiento de antígenos presentados por otras células.²⁰ Hay dos tipos principales de células T. Los linfocitos CD8⁺ reconocen fragmentos antigénicos asociados con moléculas de clase I del MHC, mientras que los linfocitos CD4⁺ reconocen antígenos asociados con moléculas de clase II del MHC. Estos dos subtipos de linfocitos T tienen funciones distintas.⁸ La mayoría de las células citotóxicas (Tc) son CD8⁺, y reconocen células infectadas por virus. Las células cooperadoras (TH) son CD4⁺ y reconocen antígenos que han sido tomados por APCs, las cuales expresan fragmentos de antígeno sobre su superficie celular. Las células T cooperadoras interactúan directamente con otras células liberando citocinas para el control del desarrollo de la respuesta inmune. Hay dos principales subtipos de células T cooperadoras: 1) células TH1 activadas por macrófagos, las cuales causan destrucción del material que éstos han tomado; y 2) células TH2, las cuales ayudan a las células B a producir anticuerpos.

Citocinas. Son proteínas solubles liberadas por células (activadas primeramente por células T), las cuales actúan como señales entre las células del sistema inmune y además pueden actuar sobre otras células del cuerpo. Existen cuatro principales grupos de citocinas: 1) las interleucinas (IL-1 a IL-12); 2) los interferones (IFN- α , IFN- β e IFN- γ); 3) los factores estimuladores de colonias (CSFs); y 4) los factores de necrosis tumoral (TNF- α y TNF- β , además de las denominadas linfoquinas).

Células B/Células formadoras de anticuerpos (AFCs)/Células plasmáticas. Son un grupo de linfocitos que producen anticuerpos. Las células B se diferencian hacia células formadoras de anticuerpos, las cuales son reconocidas histológicamente como células plasmáticas. Cada clona de células B presenta un anticuerpo de superficie diferente para el reconocimiento de antígeno, y finalmente secretará anticuerpos de esa especificidad.

Fagocitos mononucleares/Monocitos/Macrófagos. Las células de este linaje son de larga vida, y están distribuidas en todo el cuerpo. Estas células expresan receptores para anticuerpos y son activadas por los componentes del complemento, los cuales son reconocidos como inmunocomplejos por dichas células.

Anticuerpos/Inmunoglobulinas (Igs). Son producidos por células B y se unen específicamente a determinantes antigénicos (epítomos) en antígenos. Hay cinco principales clases de anticuerpos: 1) IgG; 2) IgA; 3) IgM; 4) IgD; e 5) IgE. El IgG es el principal anticuerpo sérico; éste neutraliza directamente algunos antígenos y facilita la rapidez de



neutralización de otros, por los receptores de anticuerpos en los fagocitos (receptores Fc). El IgA es el principal anticuerpo secretado.

Células presentadoras de antígeno (APCs). Es un grupo de células funcionalmente definidas, las cuales pueden presentar antígenos a células T CD4⁺. En este grupo se incluyen células dendríticas, células B y macrófagos; existen otros tipos de células que pueden actuar como células presentadoras de antígeno durante enfermedades.

Sistema del complemento. Es un grupo de moléculas séricas y receptores de superficie celulares involucrados en el control de la inflamación. Sus principales funciones son: 1) opsonización del complejo antígeno-anticuerpo, para ser endocitado por los fagocitos; 2) lisis de la membrana plasmática de las células y de algunos patógenos sensibilizados por anticuerpos; 3) atracción de macrófagos y neutrófilos a los sitios de inflamación; 4) activación de mastocitos y basófilos para liberar mediadores que controlan el flujo sanguíneo, la permeabilidad capilar y la acumulación de leucocitos.

Células asesinas naturales (NK)/ Células nulas/Linfocitos granulares largos (LGLs). Son linfocitos que carecen del fenotipo de las células T o B, pero con alguna actividad antitumoral o antiviral no específica.²⁰

FUNCIÓN DE LOS ANTICUERPOS

Los anticuerpos son moléculas bifuncionales. Una parte (la porción Fab) es responsable de la unión específica a un antígeno particular, mientras que la porción cristalizable (la porción Fc) está capacitada para interactuar con diferentes células del sistema inmune o el sistema del complemento. Los anticuerpos reconocen los antígenos intactos, los cuales pueden estar libres en solución (por ejemplo la toxina de la difteria), asociados con microorganismos (por ejemplo antígenos encontrados en la membrana de una bacteria) o pueden ser moléculas las cuales son expresadas intactas sobre la superficie de células infectadas (por ejemplo la hemaglutinina de la influenza). En todos los casos los anticuerpos se unen a antígenos particulares, y son parte importante de la defensa inmune. Los fagocitos mononucleares y los neutrófilos expresan receptores Fc (FcR), los cuales permiten fagocitar el complejo antígeno-anticuerpo para su destrucción intracelular. Los anticuerpos pueden además sensibilizar células o parásitos grandes debido al ataque de células citotóxicas, que expresan receptores Fc. A este fenómeno se le llama citotoxicidad mediada por anticuerpos (ADCC). Los eosinófilos y los linfocitos granulares grandes (LGLs) pueden ser blancos para estos mecanismos.



Una finalidad importante del rol de los anticuerpos es el control del desarrollo de la reacción inflamatoria. Los anticuerpos IgE se unen a mastocitos y a basófilos, por vía de sus receptores Fc, sensibilizando a estas células; de esta manera cuando estas células encuentran un antígeno específico, desencadenan la liberación de mediadores inflamatorios. Además, los complejos inmunes de anticuerpos formados activan el sistema del complemento, lo cual genera mediadores pro-inflamatorios. Estas funciones se muestran en la figura 2.4.⁸

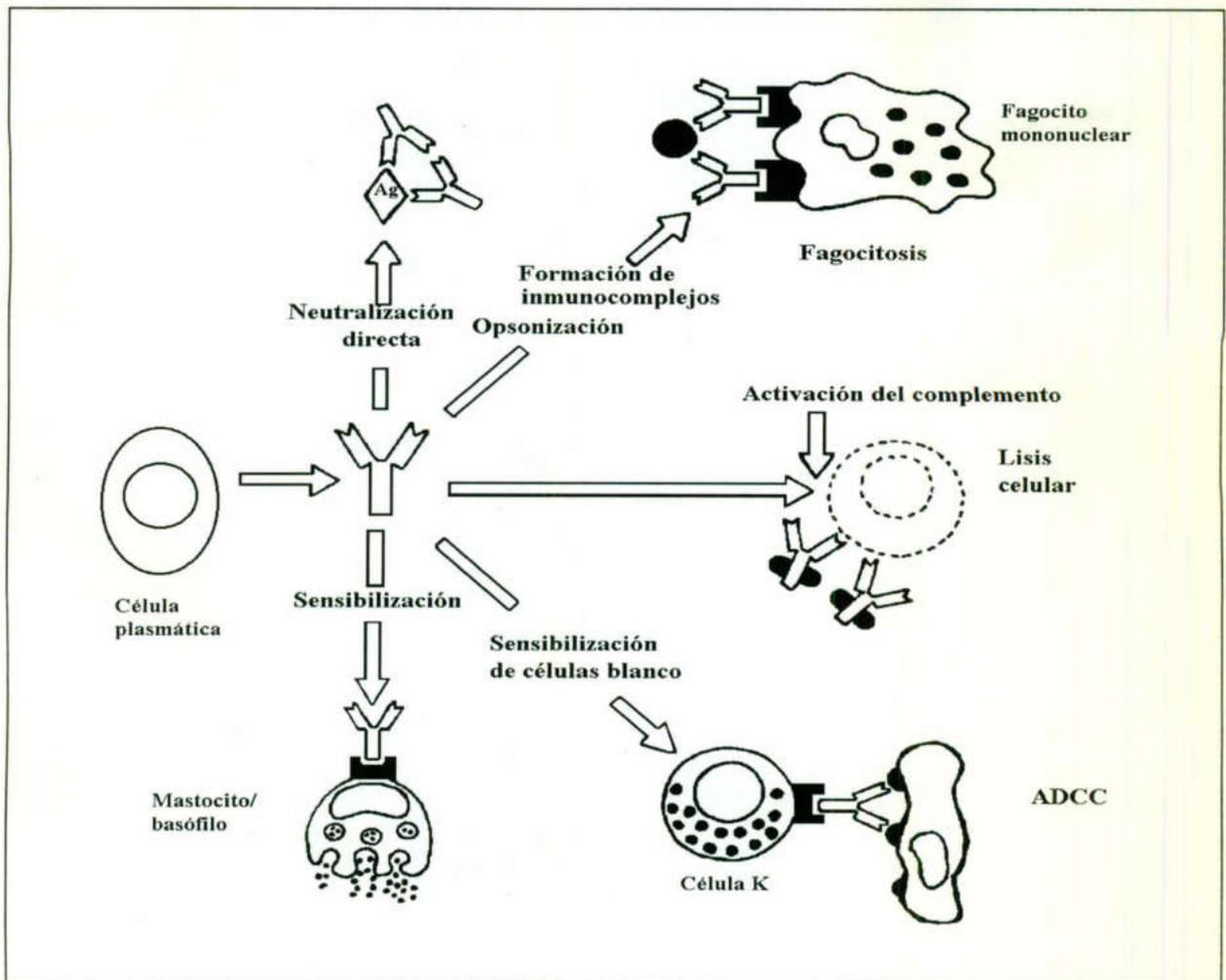


Fig. 2.4. Las diversas formas que los anticuerpos pueden actuar.



FUNCIONES DE LAS CÉLULAS T

La función primaria de los linfocitos $CD8^+$ es reconocer y matar células infectadas por virus. Durante el ensamblaje de los virus, los polipéptidos virales son asociados con moléculas de clase I del MHC. Estos complejos antígeno-MHC son transportados a la superficie de la célula para el reconocimiento por linfocitos $CD8^+$. Esto es seguido por la muerte mediada por células (linfocitos T) de una célula blanco infectada.

Los linfocitos $CD4^+$ tienen una variedad de funciones en el control de la respuesta inmune, pero ellos también reconocen antígenos fragmentados asociados con moléculas del MHC. Los antígenos que son endocitados por APCs se asocian con moléculas de clase II del MHC y son expresadas en la superficie de la APC para ser reconocidos por los linfocitos $CD4^+$. Si estos linfocitos reconocen el complejo antígeno-MHC sobre un macrófago, éste puede liberar citocinas, activando a los macrófagos a destruir a los patógenos intracelulares. Si el linfocito T reconoce el complejo antígeno-MHC sobre un linfocito B, los linfocitos T liberan citocinas, activando así a los linfocitos B a dividirse y diferenciarse. De esta manera, los linfocitos T ayudan a los linfocitos B a producir anticuerpos. Los linfocitos $CD4^+$ reconocen el complejo antígeno-MHC en otras células del cuerpo, además de interactuar con ellas y activarlas por la liberación de citocinas. La función de los linfocitos $CD4^+$ está en el control y en el desarrollo de la respuesta inmune.

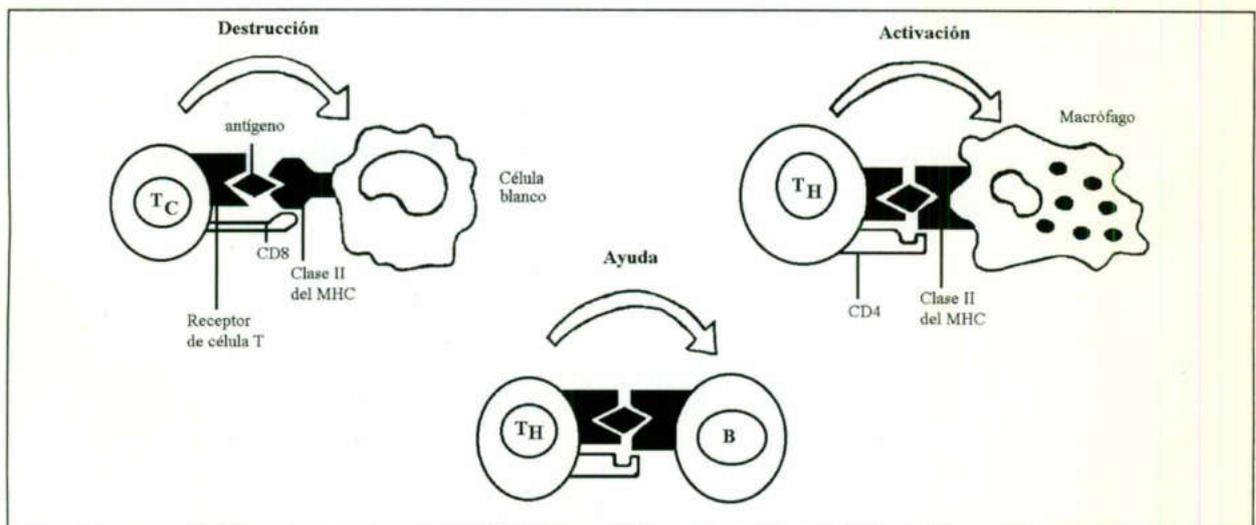


Fig 2.5. Las variadas funciones de los linfocitos T son: la destrucción de células blanco a través de las moléculas de clase I del MHC, activación de APCs (macrófagos) y ayudar a la producción de anticuerpos por los linfocitos B a través de las moléculas de clase II del MHC.

Las moléculas de clase I y II del MHC son esenciales en la presentación del antígeno a los linfocitos T. Las moléculas del MHC varían estructuralmente entre los distintos



individuos, esta diferencia hace mayor o menor la eficiencia de la presentación de cada antígeno. El haplotipo del MHC determina la susceptibilidad a enfermedades donde la respuesta inmune está involucrada. Las funciones de los linfocitos T están resumidos en la figura 2.5.⁸

FUNCIÓN DE NEUTRÓFILOS, EOSINÓFILOS Y MACRÓFAGOS

La función primaria de este grupo de células es destruir antígenos y patógenos. Los neutrófilos (PMNs) y los macrófagos fagocitan antígenos por la destrucción intracelular en sus fagolisosomas. La destrucción de los patógenos endocitados es a través de los intermediarios reactivos dependientes de oxígeno y de sus productos secretados dentro de los fagolisosomas, así como también por otros inhibidores del metabolismo bacteriano. Las enzimas contribuyen a la degradación de los complejos inmunes, microorganismos y otros antígenos fagocitados (fig. 2.6).⁸ Los eosinófilos son fagocitos débiles, pero son importantes debido su función de eliminación de grandes patógenos (algunos parásitos intestinales) por medio de la liberación de sus gránulos.

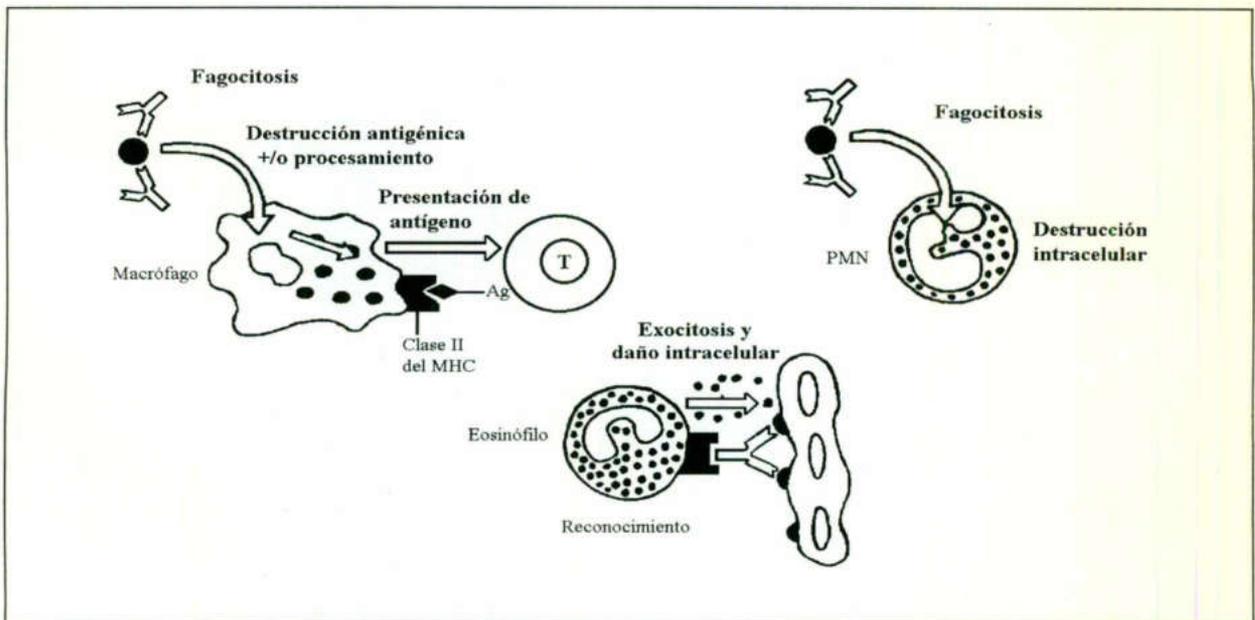


Fig. 2.6. Los neutrófilos y los macrófagos fagocitan y destruyen antígenos intracelulares. Los macrófagos y otras células del mismo linaje pueden presentar antígenos. La destrucción celular realizada por los eosinófilos es guiada por la interacción del anticuerpo unido al receptor Fc del eosinófilo y es efectuada extracelularmente.



Todas estas células pueden reconocer antígenos por medio de la unión de anticuerpos a los receptores Fc que poseen estas células, o por moléculas del complemento unidas a los receptores celulares para activar C3. Los macrófagos y otros fagocitos mononucleares sólo actúan como APCs, colectando el antígeno en su periferia, recirculando en tejidos linfoides secundarios y presentando fragmentos del antígeno asociados con moléculas de clase II del MHC a linfocitos CD4⁺. Además, estas células presentan el antígeno en los sitios donde se lleva a cabo la respuesta inmune, donde las APCs especializadas (por ejemplo, células dendríticas) son menos abundantes. Los macrófagos liberan una variedad de citocinas, algunas de las cuales son activadoras de células, mientras que otras son mediadoras del daño citotóxico en células blanco.

FUNCIONES DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El complemento es uno de los principales mediadores de las reacciones inflamatorias, las cuales pueden ser activadas tanto por la vía de anticuerpos por inmunocomplejos (**vía clásica**), o por la **vía alterna** en presencia de ciertas superficies microbianas. De esta manera están mediadas ambas inmunidades: innata y adaptativa.⁸ Varios de sus componentes son proteínas de fase aguda, debido a que aumenta su concentración durante la infección.²¹

La reacción central de la cascada del complemento es el desdoblamiento de C3 a la forma C3a y C3b. Esto puede dar inicio tanto a la vía clásica, como a la vía alterna, y es el comienzo del camino lítico.

El C3b se deposita covalentemente sobre partículas, opsonizándolas, para posteriormente ser fagocitadas por macrófagos y neutrófilos. La unión del C3b y del C3b inactivado (iC3b) a receptores en LGLs, se lleva a cabo, particularmente cuando hay unión cruzada a receptores Fc, iniciadores de la activación celular. Esto se traduce a un incremento de la actividad microbicida citolítica, acompañado por un estallido respiratorio, en la expresión de nuevos receptores de superficie y en el aumento de la secreción de enzimas lisosomales. Los eritrocitos pueden además tomar complejos inmunes por la vía de unión del C3b, y transportarlos a el bazo e hígado para transferirlos a células fagocíticas, y ser destruidos.

Las funciones del complemento se resumen en la fig. 2.7.⁸

Los pequeños fragmentos C3a y C5a liberados durante la activación del complemento son llamados anafilotóxicas. Estos, son importantes mediadores inflamatorios, ambos pueden causar degranulación de mastocitos, con liberación de histamina, PAF y otros mediadores, los



cuales causan contracción del músculo liso en la pared vascular. Además, el C5a es quimiotáctico para macrófagos y neutrófilos, y, por esta acción se incrementa la permeabilidad capilar.

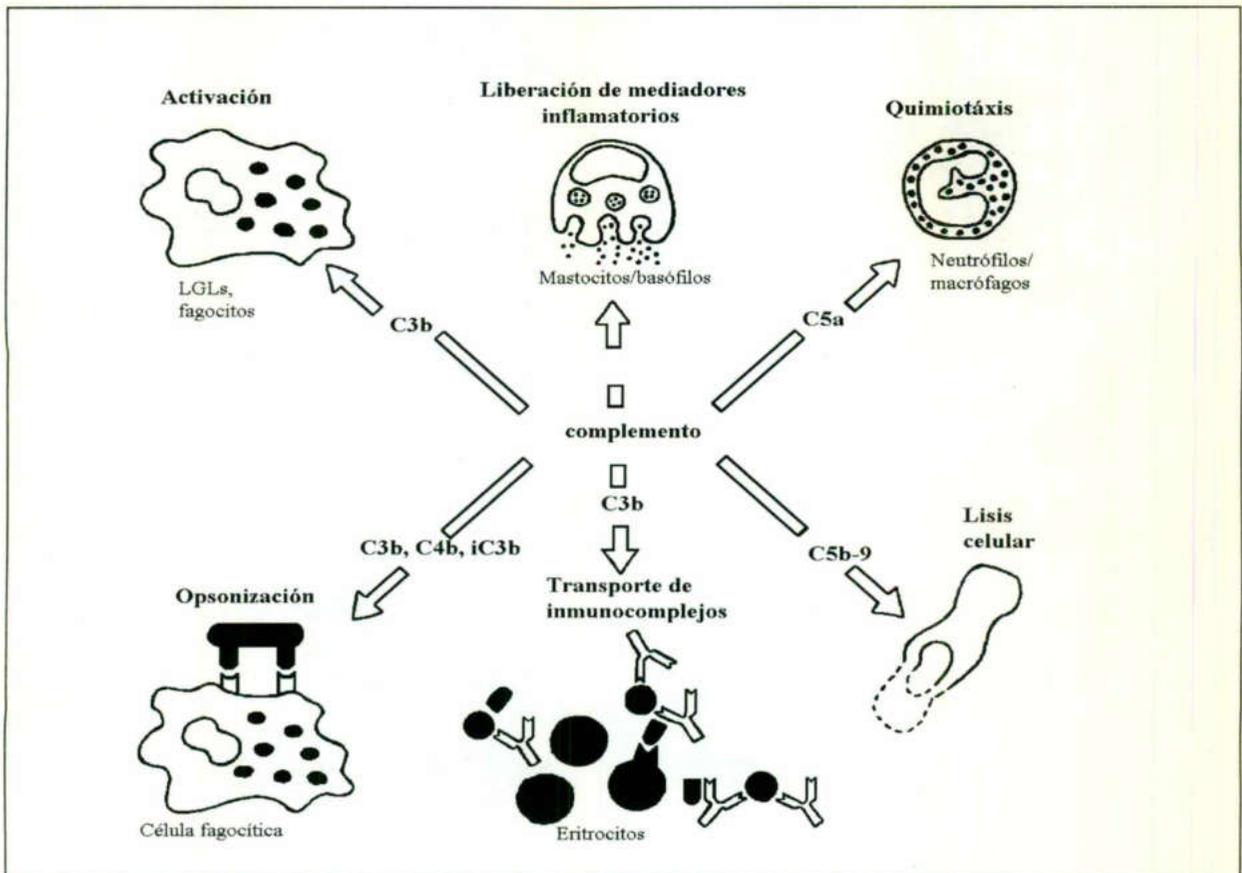


Fig. 2.7. Funciones de la cascada del complemento: actividad citotóxica, liberación de mediadores inflamatorios, quimiotaxis, opsonización de microorganismos, transporte de inmunocomplejos y lisis celular.

Los componentes de la vía lítica (C5b-C9) forman poros debido a los complejos de ataque a la membrana (MACs). Este hecho es relevante por causar daño a algunas bacterias. Además, los MACs pueden destruir células rojas, o células tisulares del huésped en enfermedades autoinmunes.

PRESENTACIÓN Y PROCESAMIENTO DEL ANTÍGENO

Las respuestas a la mayoría de los antígenos, con la excepción de los antígenos T-independientes, requieren del procesamiento del antígeno por las APCs. La razón de esto



es que las células T que son las principales reguladoras de la respuesta inmune, reconocen los antígenos sólo cuando están unidos a moléculas del MHC. Los primeros pasos de la respuesta inmune, después de la entrada del antígeno, incluyen la captura y el procesamiento de éste por la APC, y la presentación en forma procesada de dicho antígeno acompañada de las moléculas del MHC de clase II en las células TH.

Las APCs fagocitan el antígeno, que es modificado en vacuolas endocíticas. El antígeno puede sufrir desnaturalización y desdoblamiento hasta proteólisis. Si un agente sufre proteólisis, los fragmentos del antígeno original (epítomos) se asocian de manera no covalente con las moléculas de clase II y este complejo es transportado hacia la superficie celular donde se hace accesible a la célula T. Sólo un número limitado de los fragmentos peptídicos de un antígeno proteico es capaz de asociarse a las moléculas de clase II para formar un complejo antígeno. (Fig. 2.8).²¹

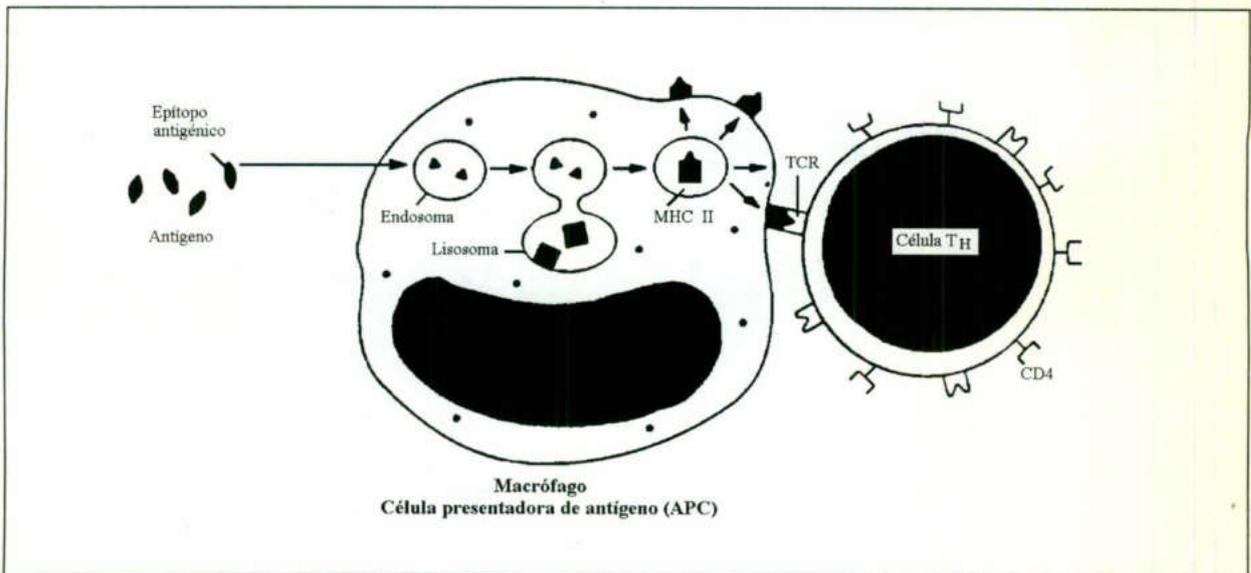


Fig. 2.8. Captación y procesamiento de un antígeno por una APC. La fragmentación del antígeno tiene lugar en el compartimento ácido (producido por la fusión del endosoma con el lisosoma), y el epítipo antigénico se asocia con moléculas de clase II del MHC. Este complejo se lleva a la superficie celular donde es accesible a los linfocitos CD4⁺.

Las células B también pueden presentar antígeno a las células T. Estas células capturan antígenos específicos a través de sus inmunoglobulinas receptoras. Las células B solas son relativamente malas activadoras al presentar antígenos a las células T vírgenes o en reposo, quizá debido a que tales células T requieran factores activadores, tales como



interleucinas, que las células B no proveen. Sin embargo, las células B sólo requieren una milésima de antígeno para activar células T de memoria. Debido a que las células B específicas para un antígeno particular son raras en un individuo no inmunizado, y las células T vírgenes no responden bien al antígeno presentado por las células B, se piensa que los macrófagos quizá tengan una función predominante como APCs en la respuesta inmune inicial o primaria, mientras que las células B pueden dominar en la memoria o en la respuesta secundaria.²¹



SISTEMA ABO

El grupo sanguíneo ABO es un conjunto de moléculas alélicamente variables expresadas sobre la superficie de los eritrocitos. Estas moléculas son carbohidratos que tienen la capacidad de inducir anticuerpos específicos cuando se transfunden en individuos que carecen de estas variantes. Estos anticuerpos pueden hemolizar las células transfundidas.²⁰

Los antígenos A y B son heredados de forma mendeliana codominante. El sistema ABO de un individuo está determinado por la presencia de uno (homocigoto) o 2 (heterocigoto) de los siguientes 3 alelos: A, B y H; los cuales están localizados en el cromosoma 9. Los genotipos y fenotipos se enlistan en la tabla 2.9.⁹

Tabla 2.9. Sistema ABO

<i>Fenotipo</i>	<i>Genotipo</i>	<i>Antígenos eritrocitarios</i>	<i>Anticuerpos</i>
O	OO	(H)	Anti-A Anti-B
A	OA o AA	A	Anti-B
B	OB o BB	B	Anti-A
AB	AB	A + B	Ninguno

BIOQUÍMICA

La enzima producida por el gen H une un residuo de fucosa a la galactosa terminal del oligosacárido precursor.²⁴ La conversión de este precursor origina la sustancia H, que es la precursora inmediata de los antígenos A y B; la cual está influenciada por los alelos H y h.⁹ Los individuos que poseen el gen A unen después de N-acetilgalactosamina a este residuo de galactosa, mientras que los que tienen el gen B unen otra galactosa, produciendo los antígenos A y B, respectivamente. Las personas con ambos genes fabrican los dos antígenos.²⁴



El gen H determina la expresión de una enzima llamada “H-transferasa” (α 2-L-fucosiltransferasa); el gen A determina la expresión de una enzima llamada “A-transferasa” (α 3-N-acetilgalactosaminiltransferasa); y el gen B determina la expresión de la enzima “B transferasa” (α 3-D-galactosiltransferasa). (Cuadro 2.10).⁹

Cuadro 2.10. Enzimas del grupo sanguíneo ABO

Gen	Enzima	Sustrato	Producto
H	α 2-Lfucosiltransferasa	Precursor de sustancia	Sustancia H
A	α 3-N-acetilgalactosaminil transferasa	Sustancia H	Sustancia A
B	α 3-D-galactosiltransferasa	Sustancia H	Sustancia B

Las sustancias con actividad antigénica del grupo sanguíneo ABO están compuestas de aproximadamente 85% de carbohidratos y 15% de polipéptidos, con un peso molecular de 200, 000 a millones de daltons. Estas sustancias están distribuidas ampliamente en las secreciones y mucosas de los tractos gastrointestinal, respiratorio y genital, así como también en los eritrocitos.

Las transferasas A y B están distribuidas ampliamente en plasma, secreciones, tejido hematopoyético y otros tejidos, y están presentes dependiendo del genotipo ABO del individuo.

ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO

Los antígenos A y B están localizados en la membrana del eritrocito. Cuando los antígenos A y/o B están ausentes en los eritrocitos, los anticuerpos anti-A y/o anti-B están presentes en el plasma. La mayoría de los antígenos A son del tipo A₁ (80%) y en menos frecuencia existe el tipo A₂ (20%). En individuos de grupo A₂B, la expresión del antígeno A₂ es débil por la presencia del antígeno B. Si un receptor A₂ es tipificado incorrectamente y recibe sangre tipo O, no produce daño. En cambio, si dona sangre un individuo A₂ a un



receptor O, se produce hemólisis de eritrocitos, debido a que los anticuerpos anti-A del receptor destruyen a los eritrocitos A₂.

Existen algunas variantes en la biosíntesis de los antígenos ABH. Los individuos que poseen un fenotipo Bombay, sus eritrocitos y secreciones no presentan antígenos A, B o H; aunque alelos A y B estén presentes. Estos sujetos son fenotípicamente grupo O, conocido como Oh en general; y como Oh^A, Oh^B, Oh^{AB}, dependiendo de su genotipo ABO. El suero de estos individuos contiene anti-A, anti-B y anti-H. El fenotipo Bombay está asociado con homocigotos para el alelo h (h/h).⁹

Los antígenos del sistema ABO (antígenos “fuertes” en trasplantes) son importantes en el éxito de los trasplantes, y éstos no deben efectuarse en receptores con isohemaglutininas en contra de antígenos ABO del donador. Ninguno de los antígenos sanguíneos menores, incluyendo el grupo Rh, ha demostrado intervenir en el área de los trasplantes.²⁹

En adultos se expresan anticuerpos IgM anti-A y/o anti-B, con especificidad complementaria a uno de sus grupos ABO. Existe un incremento en la concentración de anticuerpos IgG anti-A y anti-B en individuos de grupo O, la cual puede ser estimulada por la exposición a eritrocitos a través de transfusiones, hemorragia materno-fetal o por sustancias químicas. Las transfusiones de eritrocitos de grupo A₁ a un receptor con estos anticuerpos, raramente conducen a una reacción hemolítica transfusional, debido a su mínima actividad a temperatura corporal. El suero de individuos grupo O contiene anticuerpos anti-A, anti-A₁, anti-B y anticuerpos llamados anti-A₁B.⁹



COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)

DESCUBRIMIENTO

En la década de 1940 se descubrió que las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) eran las responsables de la aceptación o del rechazo de un injerto. George Snell y col. analizaron el rechazo de injertos de tejidos tumorales y de piel sana en cepas de ratones (en el caso de los genes polimórficos, los individuos que comparten los mismos alelos se dice que son **singénicos** entre sí y los que poseen alelos distintos son **alogénicos** entre sí). Observaron que los injertos de piel de un ratón en sí mismo (autoinjerto o injerto autólogo) o entre individuos genéticamente idénticos, es decir singénicos (sinjerto o injerto singénico), usualmente no era rechazada. En cambio, los injertos de piel entre individuos genéticamente diferentes, por ejemplo de distintas cepas (aloinjerto o injerto alogénico), sí eran rechazados. De tal manera que los genes encargados del reconocimiento de un injerto como similar a sus propios tejidos o como extraño fueron llamados genes de histocompatibilidad y se consideró que las diferencias entre lo propio y lo extraño dependían de polimorfismos genéticos entre los diferentes alelos de histocompatibilidad. Posteriormente,

Snell estudió el trasplante de piel en cepas de ratones **congénicos**, es decir que son genéticamente idénticos entre sí excepto para uno o algunos genes, en este caso los responsables del rechazo de injertos. Sus estudios indicaron que varios genes se involucran en este fenómeno; empero una región genética era la principal responsable del rechazo. La región fue identificada por George Gorer y la relacionó a un gen que codificaba un antígeno sanguíneo denominado antígeno II, por lo que se le llamó histocompatibilidad-2 (H-2). Finalmente, se descubrió en otras especies animales la existencia de genes homólogos a los de la región H-2 del ratón y que se involucraban en el rechazo de injertos; y se les dio el nombre de complejo principal de histocompatibilidad (MHC) para todas las especies. Los estudios de genética de rechazo indicaron que las moléculas del MHC se expresan codominantemente, es decir, los alelos de ambos cromosomas se expresan. Como consecuencia, el padre puede rechazar injertos de los hijos al reconocer los alelos heredados por la madre.



En el ser humano, las transfusiones sanguíneas y el trasplante de órganos fueron útiles para definir los genes determinantes del rechazo de órganos. Jean Dausset y col. notaron que los pacientes que rechazaban órganos, multitransfundidos o mujeres multíparas, a menudo producían anticuerpos contra antígenos de los leucocitos de unos individuos, pero no de otros. Entonces se creyó que estos aloantígenos eran productos de genes polimórficos que distinguían tejidos propios de extraños. Finalmente, se definieron seis loci genéticos como los responsables de la histocompatibilidad en el humano, así como sus productos proteicos expresados en leucocitos, se les designó en conjunto como antígenos leucocitarios humanos (HLA).

Los tres primeros genes se definieron serológicamente y se denominaron HLA-A, HLA-B Y HLA-C (moléculas de clase I). Después se halló por medio de reacción mixta de leucocitos otra región que recibió el nombre de HLA-D; el primer gen de esta región fue determinado serológicamente y se le dio el nombre de HLA-DR (relacionado a la región D), posteriormente se encontraron otros dos genes y se les llamó HLA-DP y HLA-DQ (moléculas de clase II). Entonces la región de HLA es el MHC del humano.

Fue hasta los años 60's cuando se dilucidó su papel en la respuesta inmune. Usando cepas de ratones, se observó que la capacidad o la incapacidad de producir anticuerpos ante inmunización con antígenos proteicos, estaba determinada por los genes del MHC y se heredaba a la descendencia de forma autosómica dominante. Entonces se les llamó genes de la respuesta inmune (Ir). Posteriormente, en la década de los 70, se comprendió su relación con la producción de anticuerpos, al descubrir que la activación de los linfocitos TH, necesarios para la producción de anticuerpos contra proteínas, dependía de la interacción de su receptor de células T (TCR) con un péptido antigénico acoplado a las moléculas del MHC expresadas en la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC).³

En los últimos 10 años se ha descubierto una asociación entre los loci genéticos para ciertas proteínas del complemento y el MHC. Los primeros estudios fueron realizados en ratones; luego se demostró la estrecha relación entre los loci para el factor B de la properdina, así como para el segundo componente del complemento con el sistema HLA. Los loci para C2, C4a, C4b y Bf están cercanos al HLA-D y HLA-DR. Estas moléculas están localizadas en el cromosoma 6 y se denominan moléculas de clase III del MHC.²⁹



ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DE CLASE I

Las moléculas de clase I del MHC consisten en dos cadenas polipeptídicas, una α de 44 kDa codificada por el MHC y una β llamada $\beta 2m$ de 12 kDa codificada fuera del MHC en el cromosoma 15. La cadena α del humano es una proteína transmembranal con su porción N-terminal extracelularmente y dividida en tres dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$, cada uno de aproximadamente 90 aminoácidos; un fragmento hidrofóbico de aproximadamente 25 aminoácidos que atraviesa la membrana y una cola citoplásmica de 25 aminoácidos hacia su porción C-terminal. La $\beta 2m$ interactúa de manera no covalente con la región extracelular de la cadena α y carece de porción transmembrana.

La molécula de clase I puede dividirse en cuatro regiones: la región de unión al péptido, una región semejante a las inmunoglobulinas, la porción transmembrana y la cola citoplásmica.

De la región de unión al péptido depende la capacidad de la molécula del MHC para unirse a péptidos extraños y formar un complejo molecular que pueda ser reconocido por el TCR de la célula T, lo cual es su principal función. Esta región está formada por los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$, entre los cuales hay un sitio de N-glucosilación. El dominio $\alpha 2$ contiene un enlace disulfuro y, por tanto, una asa de 63 aminoácidos. Los dos dominios interactúan para formar el sitio de unión al péptido, que consiste en una hendidura, cuyo piso se compone de 8 cadenas con estructura secundaria de hojas β plegadas y cuyas paredes están compuestas de dos cadenas α hélice. El tamaño de la hendidura permite que se acople un péptido de 9 a 11 aminoácidos en una conformación extendida. Debido al pequeño tamaño de la hendidura, la proteína antigénica debe ser procesada hasta fragmentos pequeños que se acomoden en ella y puedan ser reconocidos por el TCR. Al comparar secuencias de aminoácidos y nucleótidos de diferentes alelos del MHC, se ha determinado que la mayoría de los residuos polimórficos (que varían de un alelo a otro) se localizan en la hendidura de unión al péptido. Por tanto, el polimorfismo del MHC sirve para crear variaciones en la superficie química de unión al péptido; así, distintas variedades alélicas tendrán diferentes capacidades de unirse a unos u otros péptidos. Además, todos los péptidos capaces de unirse a un determinado alelo poseen características estructurales similares y difieren a los péptidos que pueden unirse a otro alelo. También hay residuos polimórficos en las regiones de las moléculas del MHC que interactúan con el TCR.

La región semejante a las inmunoglobulinas está formada por el dominio $\alpha 3$ y por la $\beta 2m$. El dominio $\alpha 3$ está altamente conservada entre las distintas moléculas del MHC,



contiene un enlace disulfuro y una asa de 86 aminoácidos. La $\beta 2m$ es invariante y también posee un enlace disulfuro y una estructura parecida a los dominios de las inmunoglobulinas; interactúa de manera no covalente con el dominio $\alpha 3$ y con las cadenas que forman las hojas β -plegadas de la hendidura de unión al péptido. Esta última interacción es más fuerte cuando el péptido ocupa la hendidura, además la $\beta 2m$ estabiliza la unión del péptido. La forma nativa de la molécula de clase I del MHC expresada en la superficie celular es un heterodímero compuesto por el péptido, la cadena α y la $\beta 2m^3$ (fig. 2.9).²¹ Además, el dominio $\alpha 3$ es la porción de la molécula de clase I que se une al $CD8^+$, lo que explica la restricción de las células T $CD8^+$ a activarse, al unirse a células que expresan moléculas del MHC de clase I.

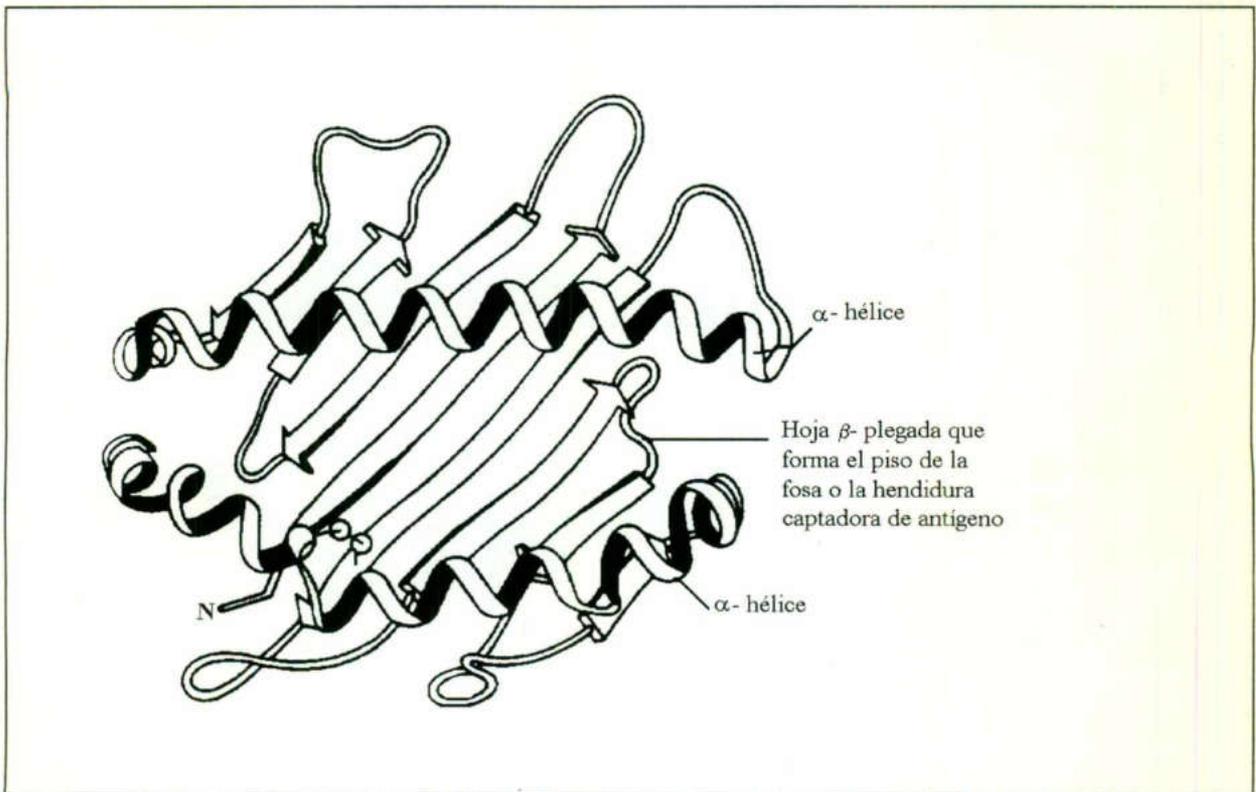


Fig. 2.9. Estructura cristalina de una molécula de clase I (vista lateral).

La región transmembrana se compone de 25 aminoácidos hidrofóbicos y adquiere una conformación de hélice α al atravesar la bicapa lipídica.

La cola citoplásmica consiste en 30 aminoácidos y varía relativamente entre los alelos del MHC. Todas las moléculas de clase I tienen sitios de fosforilación para proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA) y para la tirosina cinasa *src*, así como también un residuo de glutamina que es susceptible a transpeptidación por la enzima transglutaminasa³ (fig. 2.10).²¹



Todas estas características están probablemente implicadas en el tráfico intracelular de la molécula.

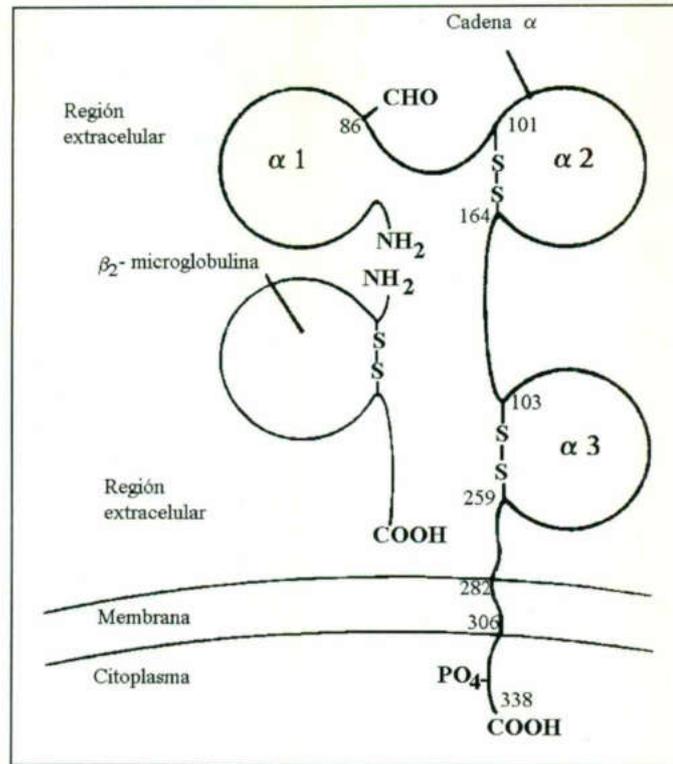


Fig. 2.10. Diagrama esquemático de una molécula de clase I.

ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DE CLASE II

Las moléculas de clase II del MHC son heterodímeros compuestos de dos cadenas unidas de manera no covalente, una α de 32 a 34 kDa y una β de 29 a 32 kDa, cuya porción extracelular se divide en dominios de aproximadamente 90 aminoácidos llamados $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$. La estructura de ambas es similar, con su porción N-terminal hacia el exterior de la célula y la C-terminal hacia el interior; sin embargo, cada cadena es codificada por un gen particular, y con algunas excepciones, ambas cadenas son polimórficas.

La estructura tridimensional de las moléculas de clase II es similar a la descrita para las moléculas de clase I; de tal manera que también pueden dividirse en cuatro regiones: la región de unión al péptido, los dominios semejantes a las inmunoglobulinas, la región transmembrana y la porción citoplásmica.



El sitio de unión al péptido está formado por los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$, que interactúan para formar la hendidura que permite el acoplamiento del péptido antigénico. El piso de la hendidura se compone de 8 cadenas en conformación de hoja β plegada y las paredes de 2 cadenas α hélice. Sólo el dominio $\beta 1$ contiene un enlace disulfuro, por lo que se forma un asa. En contraste con las moléculas de clase I, en las de clase II la hendidura está abierta en sus extremos, lo que permite que los péptidos se extiendan más allá de la hendidura y así su longitud varíe entre 10 y 30 aminoácidos, con un promedio de 14.³(Fig. 2.11)²¹

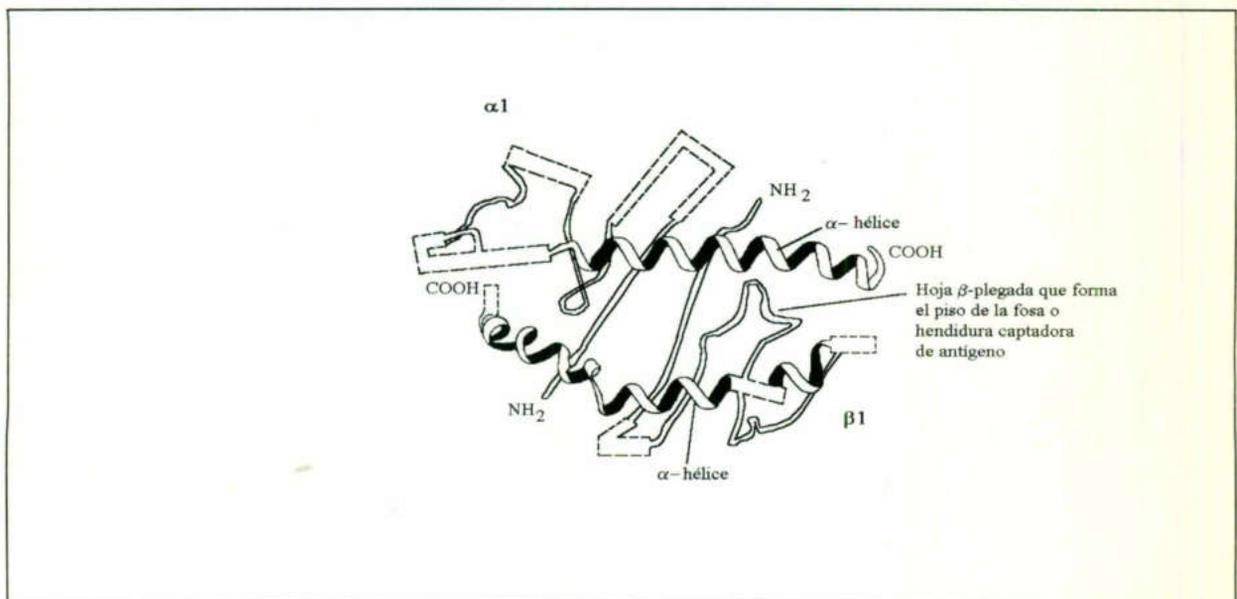


Fig. 2.11. Estructura cristalina de las moléculas de clase II (vista superior).

Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ tienen una asa formada por un enlace disulfuro y una estructura similar a los dominios de las inmunoglobulinas. Son monomórficos entre distintos alelos del mismo locus, pero sí varían con respecto a otro locus. La molécula CD4 se une al dominio de $\beta 2$, lo que provoca que el reconocimiento antigénico por las células T $CD4^+$ se lleve a cabo en la superficie de células presentadoras de antígenos que expresen moléculas de clase II del MHC.

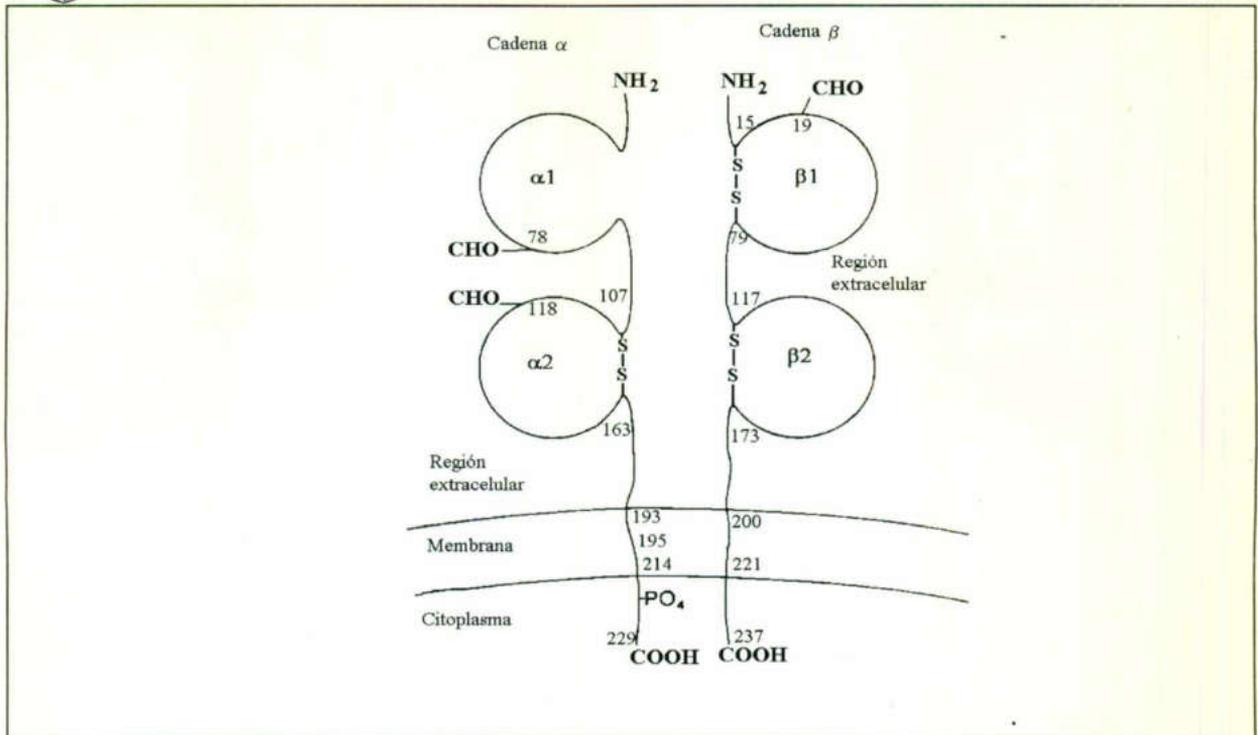


Fig. 2.12. Diagrama esquemático de las moléculas de clase II.

La porción transmembrana se compone de 25 aminoácidos hidrófobicos, que terminan en un grupo de aminoácidos básicos. La cola citoplásmica tiene longitud variable. Se conoce poco de esta última región.³(Fig. 2.12)²¹

GENES CLASE III

Los genes clase III se encuentran ubicados en una porción de 120 Kb entre los genes clase I y II dentro del MHC que se hereda como unidad genética, a la que se conoce como “complotipo” (por haplotipo del complemento). Cada complotipo codifica la síntesis de los factores del complemento C2, C4A, C4B de la vía clásica y el factor B de la vía alterna; intercalados entre los genes C4A y C4B se localizan dos genes que codifican para la expresión de la enzima 21 hidroxilasa (21-OH) la cual hidroxila el carbono 21 en la biosíntesis del cortisol. Hacia el centrómero de la región clase II se encuentran los genes TAP-1 y TAP-2, así como el gen de la colágena; y centroméricos a la región clase I los genes: HSP 70, el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa y beta.⁵²



ORGANIZACIÓN GENÓMICA

En humanos el MHC se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y abarca aproximadamente 3500 kb. La $\beta 2m$ se codifica en el cromosoma 15.

Los genes de clase II se localizan cerca del centrómero en la secuencia DP, DQ y DR. Existen dos o tres genes funcionales de la cadena β para algunos loci de clase II, pero usualmente un gen funcional de la cadena α . El uso de más de una cadena β permite que algunas moléculas, especialmente HLA-DR, sean expresadas en más de dos formas alélicas en una sola célula. Las moléculas clase II, se heredan 6 diferentes loci polimórficos, más de 6 heterodímeros $\alpha\beta$ pueden ser expresados en la misma célula, pues algunas moléculas de clase II se forman con la cadena α combinada a una de las cadenas β que pertenecen al mismo locus alélico. Heterodímeros de clase II adicionales se producen por la combinación de una cadena α de un alelo con la cadena β de otro alelo. De tal manera que un individuo puede expresar de 10 a 20 moléculas de clase II por célula (esta variación depende de cuáles alelos han sido heredados). Esto incrementa el número potencial de proteínas extrañas que pueden unirse y ser presentados en asociación con moléculas de clase II. Además, existen varios pseudogenes.

Incluidos en los loci de los genes de clase II se hallan varios genes cuyos productos intervienen en el ensamblaje de las moléculas de clase I. Dos de ellos son los genes que codifican para los transportadores en el procesamiento antigénico, TAP-1 y TAP-2, los cuales forman un heterodímero que transporta péptidos del citosol hacia el retículo endoplásmico, donde se asocian con las moléculas de clase I del MHC recién sintetizadas. Otros dos genes son los que codifican para dos proteínas, LMP-2 y LMP-7, que forman parte del proteosoma que se encarga de degradar proteínas citosólicas desnaturalizadas y acopladas a ubiquitina.

La región de clase III del MHC se encuentra teloméricamente a los genes de clase II.³ (Fig. 2.13).³⁹ En esta región se hallan genes que no comparten homología ni función con las moléculas de clase I o II, aunque muestran cierto polimorfismo.

Teloméricamente a los genes de clase III se hallan los genes de clase I, que se dividen en los genes de clase Ia o clásicos (HLA-A, HLA-B Y HLA-C) y los genes de clase Ib o no clásicos (HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-J y HLA-X). Algunos de los genes de clase Ib son pseudogenes, pero algunos codifican para proteínas no polimórficas que se expresan en asociación con $\beta 2m$, y cuya función se desconoce. Se ha descrito que uno de ellos puede funcionar como receptor para la fracción cristalizable (Fc) para translocar inmunoglobulinas a través de epitelios. Algunas de ellas pueden interactuar con el TCR. Se postula que estos



genes pueden servir como reservorio para crear nuevas moléculas de clase Ia polimórficas mediante recombinaciones y mutaciones.

El patrón de organización intron-exon de los genes de clases I y II son similares uno con otro. En todos los genes del MHC el primer exon codifica para la secuencia líder que dirige al polipéptido naciente hacia la luz de retículo endoplásmico y después es cortado de la proteína madura. Cada dominio extracelular, por ejemplo $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ para las moléculas de clase I, está codificado por un único exon. Las regiones transmembrana y citosólica se codifican por varios exones pequeños. Para las moléculas de clase I, cada uno de los sitios susceptibles a fosforilación en su cola citosólica se encuentran en exones distintos.

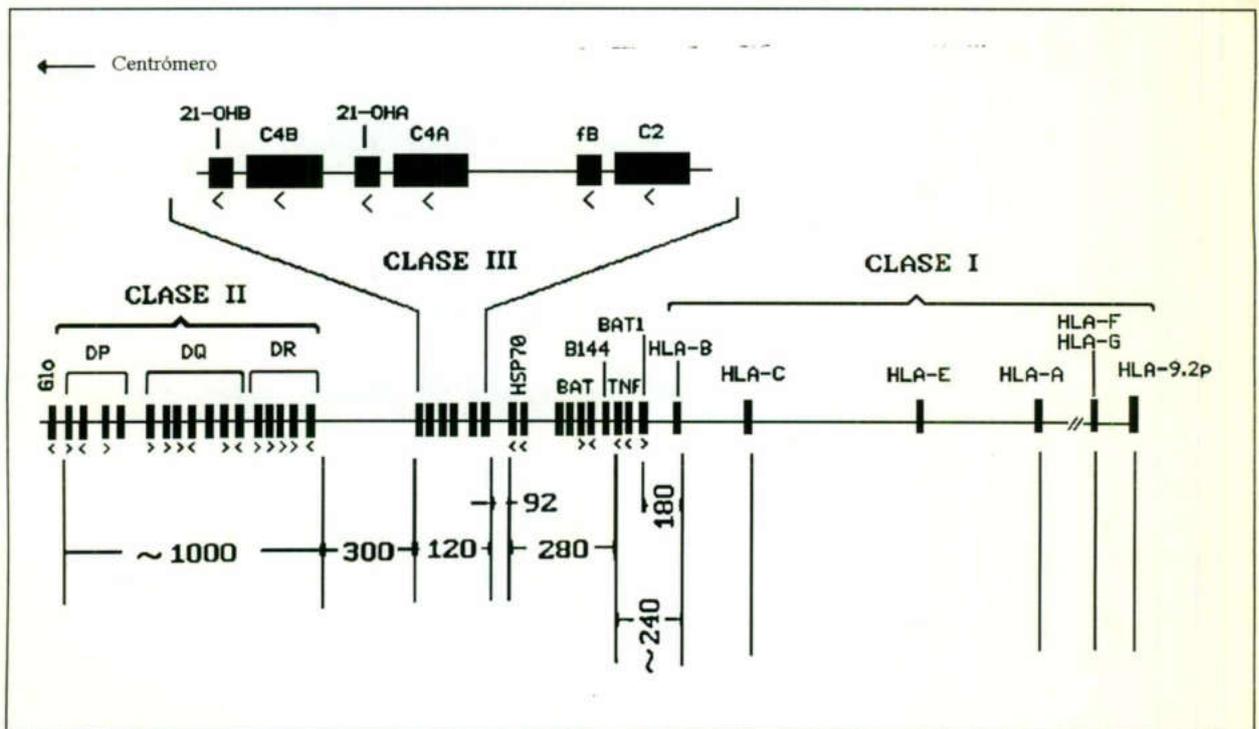


Fig. 2.13. Mapa genético del MHC. Localización de los loci clase I, II y III del MHC sobre el brazo corto del cromosoma 6.

EXPRESIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE CLASE I Y II

La regulación de la expresión de las moléculas del MHC se regula por la diferenciación celular y por los estímulos inflamatorios e inmunológicos.



Las moléculas de clase I del MHC se expresan en prácticamente todas las células nucleadas y en las plaquetas (excepto en las neuronas, en miocitos estriados, etc). Las moléculas de clase II del MHC se expresan en las células presentadoras de antígenos, tales como las células dendríticas, las células de Langerhans, los macrófagos, los linfocitos B y las células endoteliales, que están especializadas en procesar antígenos extraños hacia pequeños péptidos y acoplarlos a moléculas de clase II.

La tasa de transcripción es la principal determinante de la expresión de las moléculas del MHC. La expresión de $\beta 2m$ se coordina con la expresión de la cadena α . Las citocinas modulan la tasa de transcripción de las moléculas de ambas clases en diversos tipos celulares; lo cual es un mecanismo de amplificación de la respuesta de células T, pues la mayoría de las citocinas que aumentan la expresión de las moléculas del MHC son producidas por las células T y son las moléculas del MHC parte de los ligandos que reconoce el TCR.

Los interferones (IFN- α , β y γ), TNF y LT aumentan la expresión de las moléculas de clase I al aumentar la transcripción de los genes del MHC y otros que intervienen en su síntesis como TAP-1, TAP-2, CD74 (cadena invariante, γ o Ii)

Las moléculas de clase II se expresan constitutivamente en las células dendríticas, además de ser inducibles en los macrófagos, células de Langerhans y células endoteliales con IFN- γ . En las células B, la IL-4 aumenta y el IFN- γ disminuye su expresión. Las células presentadoras de antígenos humanas expresan mayor cantidad de HLA-DR y HLA-DP que de HLA-DQ; en cambio, las células B expresan mayor cantidad de HLA-DQ que de HLA-DP. Incluso la acción del interferón se antagoniza con IL-10.

BIOSÍNTESIS DE LAS MOLÉCULAS CLASE I Y II

Las moléculas del MHC se traducen de las moléculas de mRNA en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso y se insertan en la membrana del mismo. El péptido señal se remueve del polipéptido naciente durante la traducción. Oligosacáridos de manosa se unen a residuos de asparagina en el retículo endoplásmico rugoso durante la traducción o inmediatamente después. Posteriormente pasan a través del aparato de Golgi donde sufren modificaciones las cadenas de oligosacáridos. Una proteína llamada calnexina actúa como una chaperona que facilita este proceso de transporte. Finalmente, las glucoproteínas maduras se translocan a la membrana mediante vesículas.



Para las moléculas de clase I, la asociación de la cadena α con la β_2m sucede en el retículo endoplásmico. La β_2m interviene en la expresión adecuada de las moléculas de clase I.

La interacción del péptido con la cadena α promueve la asociación con la β_2m y el correcto plegado y ensamblado de la molécula de clase I. Las proteínas TAP forman un heterodímero transmembrana que trasloca péptidos del citosol hacia la luz del retículo endoplásmico donde ocurre el ensamblaje de las moléculas de clase I

En lo que se refiere a las moléculas de clase II, las cadenas $\alpha\beta$ se sintetizan coordinadamente y se asocian en el retículo endoplásmico rugoso con una proteína no polimórfica llamada CD74 (cadena invariante, γ o Ii), que no se codifica dentro de los loci del MHC. La forma nativa de CD74 es un homotrímero, en el cual cada subunidad interactúa con un heterodímero $\alpha\beta$; de tal manera que la estequiometría de las moléculas de clase II nativas es $3\alpha_3\beta_3\gamma$. CD74 se separa del heterodímero $\alpha\beta$ maduro antes de que alcance la superficie celular. CD74 funciona como chaperona y es requerida para el apropiado plegado y ensamblaje de las moléculas de clase II. Además, los péptidos no pueden asociarse a las moléculas de clase II hasta que la cadena CD74 se separe de ellas.³

POLIMORFISMO

Los genes clase I y II del MHC poseen el más grande polimorfismo conocido en mamíferos. Hasta la fecha se han identificado 27 estructuras variadas de HLA-A, 10 de HLA-C, 59 de HLA-B, 26 de HLA-D, 21 de HLA-DR, 9 de HLA-DQ, y 6 de HLA-DP. A nivel del DNA este polimorfismo es aún más elevado, por ejemplo del gene HLA-A2 existen 17 variantes (A*0201-A*0217) y del HLA-B35 en México existen 16 variantes (B*3501-B*3516) a nivel de la secuencia de nucleótidos; esto ha inducido un cambio en la nomenclatura. Un antígeno se identifica por la letra del locus y un número (p. ej., A1, B51, Cw8, DR4, etc). Un alelo se identifica por la letra del locus, un asterisco y un número (p. ej., A*0101, B*0501, Cw*0401, DRB1*0401, etc), así la variante 1 del B35 se designa HLA-B*3501 y la 16, HLA -B*3516.⁵²

En el locus HLA-DR, el polimorfismo reside únicamente en la cadena β (la α no es polimórfica). Existen varias cadenas DRB funcionales (DRB1, DRB4, DRB5). La más polimórfica es la DRB1 y determina las especificidades DR desde el HLA-DR1 hasta el HLA-DR18, muchas de estas especificidades tienen subtipos, por ejemplo el HLA-DR4, así el alelo DRB1*0401 es Dw4, el DRB1*0402 es Dw10, el DRB1*0403 es Dw13, etc (véase tabla de



especificidades en el apéndice). El HLA-DRB2 es un pseudogen. El gen DRB3 se expresa sólo en los haplotipos que tienen diferentes subtipos del antígeno supertípico DRw52. El gen DRB4 codifica las especificidades del antígeno DRw53 y se expresa sólo en los haplotipos que son DR4 y DR7. El gen HLA-DRB5 se encuentra sólo en los haplotipos DR2 (DR15 y DR16). Los haplotipos DR1, DR8 y DR10 expresan sólo el gen DRB1.

Las cadenas α y β de los genes HLA-DP y HLA-DQ son polimórficas. En la región DQ existen asociaciones de DQA1 con DQB1, las especificidades DQ se determinan en la cadena DQB1. Existen muchos otros genes clase II: DQA2, DQB2, DPA1, DPB1, DPA2 y DPB2, así como los pseudogenes DO y DN.³⁹

Se desconoce el mecanismo que dio lugar a este extenso polimorfismo, pero existen 2 hipótesis que lo explican; la primera es la "hipótesis de deriva aleatoria", la cual expone que el polimorfismo se debe a las variaciones al azar de una estructura genética básica y, que dicha variación tiene una cierta frecuencia dentro de una población determinada. La segunda es la "hipótesis de selección natural", la cual propone que existe selección de los genes polimórficos sobre los monomórficos. Probablemente ambos mecanismos participan en el desarrollo de los polimorfismos. La trascendencia del micropolimorfismo es el que le confiere a la especie un enorme repertorio de elementos de reconocimiento para la gran variedad de antígenos ambientales y, por lo tanto una gran diversidad en la capacidad para activar respuestas inmunes contra los patógenos que podrían acabar con la especie, dando así, una ventaja selectiva. Por ejemplo, los individuos cuyas moléculas de clase I y II no funcionan en el contexto apropiado para interactuar en el reconocimiento de los determinantes antigénicos por parte del receptor de las células T, desarrollan defectuosamente la respuesta inmune en contra de ciertos microorganismos patógenos. Esta ausencia de reconocimiento de los determinantes antigénicos de un microorganismo específico, representa lo que se conoce en inmunología como "punto ciego" dentro del repertorio de las células T. Parece ser que el polimorfismo del MHC es una compensación de estos puntos ciegos de las células T y los individuos portadores de ese defecto tienen tendencia a desaparecer; la población sobrevive y se incrementa debido a que otros individuos no poseen esos puntos ciegos.

La mayoría de los alelos de HLA dentro de un mismo locus se encuentran relacionados entre sí, de tal forma que las variaciones que distinguen un alelo de otro pueden ser muy pequeñas y estar distribuida no al azar a lo largo de los genes, sino en regiones específicas, así por ejemplo, las diferencias alélicas se acumulan en los exones 5' proximales, es decir, las porciones de los genes que codifican para los segmentos aminoterminales de las



moléculas de HLA que se sitúan en regiones más lejanas a la membrana celular. Dentro de un locus de HLA la secuencia de nucleótidos está altamente conservada con variaciones que determinan el polimorfismo alélico confinado a uno o dos sitios específicos de diversidad. Este conglomerado de sitios polimórficos dentro de HLA tiene implicaciones directas en la estructura y función de las moléculas de HLA.

HAPLOTIPOS

Los genes de HLA se heredan siguiendo la primera ley de Mendel, en forma codominante, de modo que cada haplotipo (total de alelos del MHC en cada cromosoma) se manifiesta un antígeno de cada locus y se expresan los dos. Así, el genotipo consiste de dos antígenos de cada locus y cada individuo es portador de 12 antígenos de HLA; seis de cada región provenientes de un haplotipo materno y seis de uno paterno⁵² (fig. 2.14).³⁸ Por ejemplo, un haplotipo de HLA de un individuo podría ser HLA-A3, B27, DR4. Los individuos heterocigotos tienen dos haplotipos.³⁹

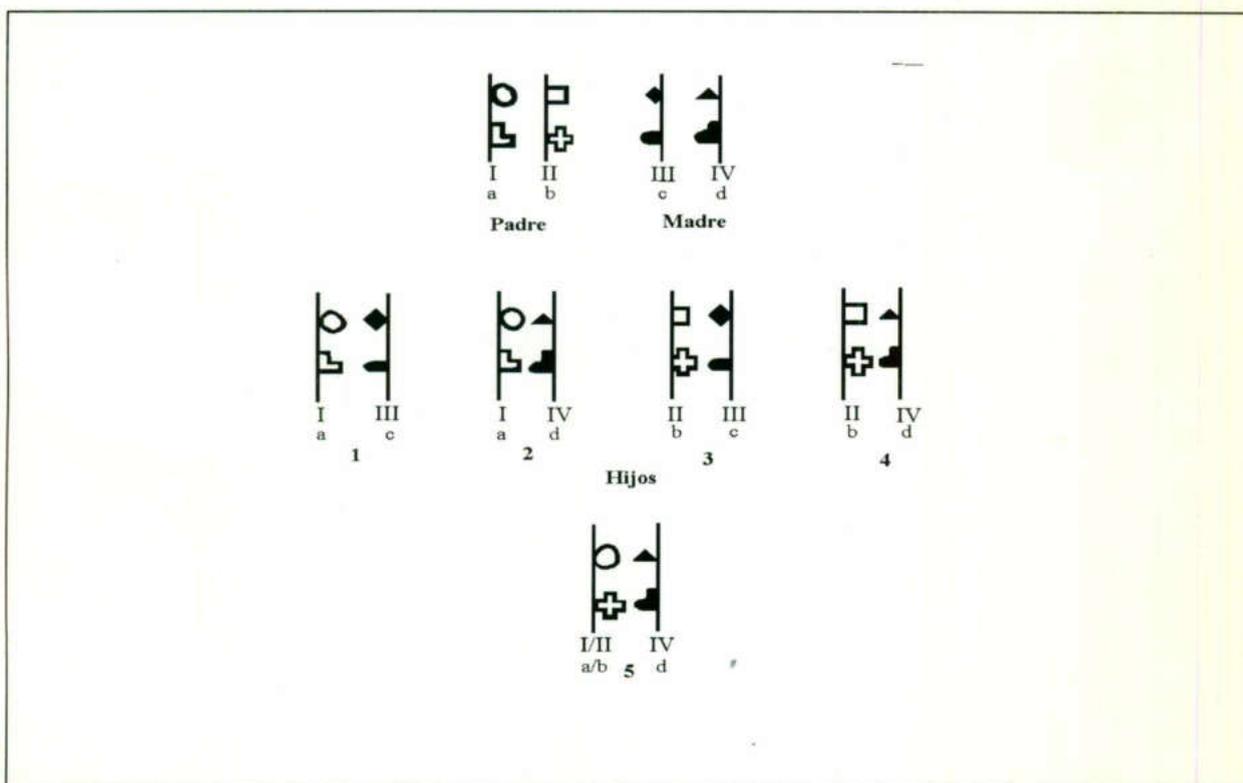


Fig. 2.14. Herencia de los genes de HLA. Cada hijo hereda un cromosoma paterno y otro materno, y los genes del MHC en ambos cromosomas son expresados en la superficie celular. Cuatro diferentes combinaciones de haplotipos presentan los hijos del 1-4. El hijo 5 tiene un



nuevo haplotipo creado por recombinación entre el HLA-B y el HLA-D sobre el cromosoma del padre.

Un alelo es la forma alternativa de un gen que puede ocupar el mismo locus genético dentro de un cromosoma. Para los genes polimórficos, un individuo puede tener el mismo alelo en el locus genético de ambos cromosomas homólogos y ser considerado homocigoto, o tener dos alelos diferentes, cada uno en un cromosoma y se dice que es heterocigoto.³

DESEQUILIBRIO GENÉTICO

Es el fenómeno definido como la ocurrencia de dos o más alelos en un mismo haplotipo, con una frecuencia mayor a lo esperado de acuerdo a las frecuencias génicas individuales.

HAPLOTIPOS EXTENDIDOS

Existen haplotipos que muestran desequilibrio genético con una frecuencia mayor a la esperada de acuerdo a frecuencias génicas individuales, se les conoce como "haplotipos extendidos". Por ejemplo, en caucásicos, el haplotipo extendido más conocido es el HLA A1, B8, CW7, DR3, DRw52a, DQw2.1.

La causa de los haplotipos extendidos no se conoce; entre los posibles mecanismos responsables se incluyen: selección de la respuesta inmune (respuesta a ciertos agentes infecciosos tales como virus, bacterias o parásitos) y mutaciones recientes. Los haplotipos extendidos tienen ventajas evolutivas.

FUNCIÓN BIOLÓGICA

La principal función del MHC es la discriminación entre lo propio y lo no propio.²⁹

Los genes del MHC son los genes que controlan la respuesta inmune (Ir).

Un linfocito T reconoce sus péptidos antigénicos cuando están acoplados a una u otra clase. El origen del antígeno determina a qué clase de las moléculas del MHC se unirá, el tipo de linfocito T que activará y el tipo de respuesta que inducirá; por ejemplo, los antígenos endógenos se unen a moléculas de clase I y los exógenos a moléculas de clase II. Las células T CD4⁺ reconocen antígenos extraños unidos a moléculas de clase II del MHC propio y las células T CD8⁺ reconocen antígenos extraños unidos a moléculas de clase I del MHC propio.



El tipo de respuesta inmune también está determinada por la presencia y expresión específica de un determinado alelo de los genes del MHC, pues cada forma alélica varía en su habilidad para unirse y presentar diferentes determinantes antigénicos.

Además, los linfocitos T maduros no reaccionan frente a proteínas propias; pues se someten a un proceso de aprendizaje de las moléculas del MHC y de los péptidos antigénicos propios.³



III. TRANSPLANTE DE RIÑÓN

INDICACIONES

En los pacientes que están en la primer etapa de la insuficiencia renal crónica, se emplea el tratamiento conservador (preservar y cuidar al paciente, mediante vigilancia especializada) antes de que se llegue a los límites en que la alteración de la homeostasis interna (ejercida por el riñón enfermo), ya no puede mantener la vida del sujeto urémico y sea necesario continuar con la etapa de tratamientos substitutivos (diálisis) o de reemplazo (trasplante) de la función renal.²⁹

Los candidatos a recibir un trasplante renal son pacientes con insuficiencia renal crónica terminal.⁶ Este incrementa la esperanza y mejora la calidad de vida.¹⁵ El trasplante cuando es exitoso, ofrece un mayor grado de rehabilitación del paciente urémico comparado con la hemodiálisis o la diálisis peritoneal. El trasplante renal ha demostrado ser superior que la diálisis crónica con respecto al periodo de vida, costos médicos y sobre todo, para salud del paciente³⁸

Se han establecido una serie de factores que se consideran importantes en la selección de estos enfermos: a) edad; b) mala respuesta al manejo médico conservador; c) ausencia de factores reversibles; d) normalidad en el tracto urinario bajo; e) ausencia de complicaciones extrarrenales mayores (enfermedad sistémica, malignidad, enfermedad cerebral o coronaria); f) ausencia de infección activa; g) ausencia de desnutrición grave; h) ausencia de pancitopenia; i) factores socioeconómicos y psiquiátricos.²⁹

La enfermedad más común que conduce al tratamiento del trasplante renal es la glomerulonefritis, seguida por la pielonefritis crónica.³⁰ En el cuadro 3.1²⁹ se concentran la mayoría de las enfermedades que cursan con insuficiencia renal terminal y han sido susceptibles de tratamiento mediante el trasplante renal.²⁹

**Cuadro 3.1.** Indicaciones para el trasplante renal

<i>I. Glomerulonefritis primaria:</i>	<i>VI. Insuficiencia renal aguda irreversible:</i>
Proliferativa focal	Necrosis tubular aguda
Proliferativa difusa	Necrosis cortical
Proliferativa intracapilar y extracapilar	
Membranoproliferativa de tipos I y II	<i>VII. Uropatía obstructiva</i>
Esclerosis focal y segmentaria	
Membranosa	<i>VIII. Disproteinemias:</i>
IgA o enfermedad de Berger	Amiloidosis
<i>II. Enfermedades sistémicas con glomerulonefritis:</i>	Crioglobulinemia por IgG-IgM
Lupus eritematoso sistémico	<i>IX. Congénitas y hereditarias:</i>
Púrpura anafilactoide	Enfermedad poliquística
Poliarteritis nodosa	Nefronoptosis o enfermedad quística medular
Esclerodermia	Displasias renales
Granulomatosis de Wegener	Síndrome nefrótico infantil
Síndrome de Goodpasture	Síndrome de Alport
<i>III. Nefritis tubulointersticiales:</i>	Cistinosis
Pielonefritis crónica	Oxalosis
Analgésicos	<i>X. Nefrectomía por:</i>
Metales pesados (plomo, oro, cadmio)	Traumatismo
Otros	Cáncer renal
<i>IV. Padecimientos vasculares:</i>	Esclerosis tuberosa
Nefrosclerosis	Riñón en herradura
Obstrucción de arteria renal	
Trombosis de vena renal	<i>XI. Misceláneas:</i>
<i>V. Padecimientos metabólicos:</i>	Nefritis por radiación
Diabetes mellitus	Síndrome hemolítico-urémico
Gota	
Nefrocalcinosis	



CONTRAINDICACIONES

CONTRAINDICACIONES EN EL RECEPTOR

Los problemas que presenta el paciente en los cuales el trasplante renal no es un tratamiento admisible se muestran en el cuadro 3.2¹⁵

Con objeto de volver la máxima vida al injerto, los sujetos deben tener una esperanza de vida mayor que la vida media promedio del órgano transplantado, con lo que se deben de excluir a aquellos con lesiones neoplásicas de enfermedades crónicas que acortan la vida. Además, la inmunosupresión puede acelerar el crecimiento tumoral y disminuir la esperanza de vida.

Cuadro 3.2. Criterios de exclusión para el trasplante renal

<i>Contraindicaciones absolutas</i>	<i>Contraindicaciones relativas</i>
Lesión metastásica	Obesidad o desnutrición
Trastornos metabólicos en evolución (enfermedad de Fabry, oxalosis)	Infección de vías urinarias
Sepsis activa	Enfermedad vascular periférica grave
Tuberculosis activa	Diabetes mellitus mal controlada
Vasculitis grave	No haber llevado a cabo el régimen prescrito
Enfermedad de células falciformes	Pobre apoyo familiar
Enfermedad vascular en etapa terminal	Alteraciones mentales
SIDA o seropositividad de HIV	Enfermedad renal primaria con tasa de recidivas postoperatorias alta (nefropatía por IgA, trastornos antiglomerulares de la membrana basal, glomerulosclerosis focal)
Infección por el virus de la hepatitis B	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
Abuso de drogas	
Esperanza de vida menor a 5 años	
Lupus eritematoso sistémico activo	
Infarto de miocardio reciente	
Otras enfermedades en etapa terminal (cardíacas, pulmonares, hepáticas)	
Deficientes recursos económicos (para las medicaciones subsecuentes al trasplante)	
Incompatibilidad de las moléculas de HLA clase I y II	
Incompatibilidad del sistema ABO	



Los pacientes con patologías malignas aisladas que llevan al menos dos años libres de la enfermedad pueden ser considerados candidatos al trasplante. Sin embargo, las patologías malignas sintomáticas o metastásicas constituyen una contraindicación absoluta. Tanto la patología coronaria como la arterioesclerosis se agravan por el trasplante renal, y constituyen una de las principales causas de muerte en la supervivencia a largo plazo de los transplantados renales. Otras patologías renales, como el síndrome hemolítico-urémico, la enfermedad glomerular de la membrana basal y el lupus eritematoso, no son contraindicaciones absolutas, pero se deberá posponer el trasplante hasta que la enfermedad esté inactiva.

Los pacientes con hepatitis B tienen una mayor incidencia de hepatopatías progresivas tras el trasplante renal. La infección activa es una contraindicación absoluta debido a los efectos adversos de la terapia inmunosupresora. Los pacientes seropositivos para el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) o con SIDA no suelen considerarse candidatos al trasplante debido a su elevada tasa de mortalidad.

El abuso de sustancias activas constituye una contraindicación absoluta. Para que estos pacientes sean considerados como posibles receptores deben tener por lo menos seis meses libres de abuso de drogas.¹⁵

La edad es una contraindicación relativa, se recomienda que niños menores de dos años sean mantenidos con diálisis y se espere para ser transplantados. Los trasplantes en pacientes mayores de 70 años han tenido buenos resultados, aunque es mayor la mortalidad debida a la enfermedad cardiovascular; en algunos es preferible el mantenimiento con diálisis.¹

CONTRAINDICACIONES EN EL DONADOR VIVO

Las contraindicaciones para la donación renal por un donante vivo se muestran en el cuadro 3.3.²⁹

La edad del potencial donador, no constituye una contraindicación formal. La integridad y salud psíquica del donador, así como su motivación para la donación, tienen la limitante de poderse valorar en forma subjetiva. No se recomienda como necesaria y rutinaria una valoración psiquiátrica, pero repetidas entrevistas e informales conversaciones con el donador, buscando la sincera comunicación de sus dudas e inquietudes, son convenientes.



Los potenciales donadores de pacientes diabéticos requieren la prueba de tolerancia a la glucosa, previo tratamiento con esteroides.²⁹ Cualquier donador que esté en peligro importante de presentar hipertensión o insuficiencia renal impedirá la donación de su riñón.¹⁵

La donación ofrecida por un sujeto no relacionado es universalmente rechazada. Los argumentos que justifican este rechazo son principalmente dos: a) la diferencia antigénica es comparable a la ofrecida por un injerto cadavérico, lo que hace inaceptable la nefrectomía de un sujeto vivo, que no ofrece mejores posibilidades de éxito que un cadáver; b) la potencial aparición de donadores mercenarios, que con propósitos de lucro distorsionen los objetivos de la donación altruista.²⁹ A causa de situaciones éticas, los cónyuges representan la única fuente aceptada de donadores vivos no emparentados.¹⁵

Cuadro 3.3. Contraindicaciones para la donación renal

I. Absolutas:

1. Enfermedad renal bilateral
2. Arterias renales múltiples, pequeñas y bilaterales
3. Arteriosclerosis cerebral o coronaria
4. Nefrolitiasis o condiciones que la predispongan
5. Infección renal (hasta resolverse)
6. Obesidad severa (hasta reducción de peso)
7. Hipertensión arterial
(para donadores menores de 40 años)

II. Relativas:

1. Obesidad discreta
2. Hipertensión arterial moderada
(en donadores mayores de 40 años)
3. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica moderada
4. Diabetes mellitus
5. Edades extremas (menores de 18 años o mayores de 65 años)



CONTRAINDICACIONES PARA LA DONACIÓN CADAVÉRICA

Los riñones de donadores cadavéricos cuyo rango de edad va de 5 a 50 años²⁹ pueden ser aceptables si manifiestan función normal sin antecedentes de hipertensión tratada o lesiones metastásicas (salvo tumores localizados en el sistema nervioso central). Se elimina cualquier donador potencial que experimente sepsis incontrolada, en especial si los hemocultivos son positivos para *Candida* o *Pseudomonas*. Si los hemocultivos recientes son negativos, podrán utilizarse los riñones dentro de límites de seguridad. Si el cultivo del medio de transporte se vuelve positivo, el receptor debe tratarse con antibióticos.¹⁵

Las contraindicaciones para la donación cadavérica se resumen en el cuadro 3.4.²⁹

Cuadro 3.4. Contraindicaciones para la donación cadavérica

Proceso maligno extracerebral Infección sistémica Infección renal crónica (pielonefritis) Hipertensión arterial sistémica Diabetes mellitus u otra enfermedad sistémica con daño renal Aterosclerosis generalizada severa.

Vianello y col. demostraron que riñones de donadores cadavéricos que tenían de 12 a 25 años de edad, dieron el mejor resultado funcional, mientras que los riñones provenientes de donadores cadavéricos que tenían arriba de 50 años estaban asociados con baja funcionalidad del riñón, entonces sugirieron que éstos riñones pueden usarse, transplantándolos en los pacientes con una expectativa de vida de 10 a 15 años.³¹

Los riñones cadavéricos de donadores jóvenes no han sido totalmente aceptados para el trasplante, debido a los cambios histológicos relacionados con la edad en estos riñones, lo que incrementa las complicaciones técnicas, los efectos adversos de la ciclosporina, una función inadecuada, y un corto periodo de supervivencia del injerto.⁴⁵



EVALUACIÓN Y CUIDADOS DEL RECEPTOR

La evaluación inicial debe descubrir los problemas especiales que puedan necesitar de estudios adicionales y de intervención quirúrgica antes del trasplante. Los candidatos potenciales al trasplante se investigan de manera sistemática por medio de un criterio multidisciplinario coordinado por el cirujano de trasplante (cuadro 3.5).²⁹ Algunos candidatos se eliminan como consecuencia de los resultados de la historia clínica y la exploración física. Los pacientes que llegan para retransplante requieren investigación directa para saber si el injerto anterior se perdió por causas médicas o por no cumplir las indicaciones médicas. Los pacientes con infección activa no deben someterse al trasplante hasta que se haya eliminado ésta, con objeto de disminuir la probabilidad de sepsis postoperatoria.

Para seleccionar a los pacientes para un trasplante renal se deben tener en cuenta tanto el posible receptor como el posible donador.¹⁵

VALORACIÓN PSICOSOCIAL

Los factores económicos, sociales, culturales y psicológicos son tomados en consideración. En la etapa previa al trasplante se debe realizar una valoración psicosocial del receptor y sus familiares, con el objeto de identificar todo tipo de problemas emocionales. Se debe hacer un estudio socioeconómico del paciente para apoyar los gastos de la técnica y de los medicamentos por largo tiempo. La orientación o educación del enfermo son indispensables, para que siga correctamente las indicaciones médicas y disminuya el riesgo de rechazo al injerto.⁷

La evaluación psicológica ofrece la posibilidad de conocer el tipo de respuesta que presenta el paciente a estos estados y su posible comportamiento ulterior. En la mayoría de los casos esta evaluación psicosocial se efectúa una vez que el paciente se ha sometido ya al tratamiento médico y a la diálisis repetidas, encontrándose en mejores condiciones generales, de tal forma que el estudio de estos factores permita en algunos casos prevenir las respuestas psíquicas patológicas.²⁹ Por último, el paciente se traslada a la unidad de trasplante y se presenta al personal para que tenga familiaridad con él.⁷

**Cuadro 3.5.** Lista de estudios para receptores de trasplante renal

<i>I. General:</i> Historia clínica y examen físico Radiografía de tórax Electrocardiograma	<i>VII. Infectología:</i> P.P.D. Urocultivos Hemocultivos Exudado y cultivo faríngeos Coprocultivo
<i>II. Hematología:</i> Citología hemática Cuenta plaquetaria Pruebas de coagulación (TP y TPT)	<i>VIII. Estudios de tipificación:</i> Grupo sanguíneo ABO HLA Pruebas cruzadas (anticuerpos citotóxicos) Cultivo mixto de linfocitos*
<i>III. Inmunología:</i> Electroforesis de proteínas Células L.E Anticuerpos antinucleares Complemento Factor reumatoide Anticuerpos anti-membrana basal glomerula Antígeno Australia	<i>IX. Signos de hiperparatiroidismo:</i> Radiografías de huesos Calcio, fósforo, magnesio, fosfatasa alcalina
<i>IV. Renal:</i> Tomografía Depuración de creatinina Electrolitos séricos Electrolitos urinarios Examen general de orina Biopsia renal	<i>X. Estudios de hipertensión:</i> Radiografía de tórax (cardiomegalia) ECG Examen oftalmológico T. A. seriada
<i>V. Evaluación urológica:</i> Cistografía Pielografía retróg Cistometría Estimulación vesical	<i>XI. Neumología:</i> Pruebas de función respiratoria
<i>VI. Gastroenterología:</i> Serie gastroduodenal Colon por enema baritado Pruebas de funcionamiento hepático	<i>XII. Interconsultas:</i> Cardiología Otorrinolaringología Dental Psiquiatría Anestesia Medicina social

*En algunos centros (véase pruebas de histocompatibilidad)



Cuadro 3.5. Lista de estudios para receptores de trasplante renal

I. General:

Historia clínica y examen físico
Radiografía de tórax
Electrocardiograma

II. Hematología:

Citología hemática
Cuenta plaquetaria
Pruebas de coagulación (TP y TPT)

III. Inmunología:

Electroforesis de proteínas
Células L.E
Anticuerpos antinucleares
Complemento
Factor reumatoide
Anticuerpos anti-membrana basal glomerula
Antígeno Australia

IV. Renal:

Tomografía
Depuración de creatinina
Electrolitos séricos
Electrolitos urinarios
Examen general de orina
Biopsia renal

V. Evaluación urológica:

Cistografía
Pielografía retrógr
Cistometría
Estimulación vesical

VI. Gastroenterología:

Serie gastroduodenal
Colon por enema baritado
Pruebas de funcionamiento hepático

VII. Infectología:

P.P.D.
Urocultivos
Hemocultivos
Exudado y cultivo faríngeos
Coprocultivo

VIII. Estudios de tipificación:

Grupo sanguíneo ABO
HLA
Pruebas cruzadas (anticuerpos citotóxicos)
Cultivo mixto de linfocitos*

IX. Signos de hiperparatiroidismo:

Radiografías de huesos
Calcio, fósforo, magnesio, fosfatasa alcalina

X. Estudios de hipertensión:

Radiografía de tórax (cardiomegalia)
ECG
Examen oftalmológico
T. A. seriada

XI. Neumología:

Pruebas de función respiratoria

XII. Interconsultas:

Cardiología
Otorrinolaringología
Dental
Psiquiatría
Anestesia
Medicina social

*En algunos centros (véase pruebas de histocompatibilidad)



HEMODIÁLISIS

Todo paciente con insuficiencia renal terminal debe ser dializado antes de someterse a cualquier intervención quirúrgica. La hemodiálisis elimina los productos tóxicos de pequeño peso molecular de la sangre, restablece el balance acidobásico y la homeostasis hidroelectrolítica; asimismo, permite mantener al paciente en buenas condiciones mientras es transplantado y terminan sus estudios clínicos, de laboratorio y de gabinete. Además lo prepara para otras intervenciones quirúrgicas necesarias y ofrece la posibilidad de tratamiento en caso de falla temporal o permanente del trasplante.

En general, no existe un criterio uniforme en cuanto al tiempo de hemodiálisis ideal al que debe someterse un candidato a trasplante renal. Los pacientes en lista de espera para trasplante de donador cadavérico pueden permanecer en programas de hemodiálisis por varias semanas o meses.

DIETA

Los pacientes sometidos a un programa de hemodiálisis deben llevar a cabo un balance nutricional especial, ya que la ingesta libre de sodio y proteínas se asocia con una mayor retención de líquidos y a la elevación de los niveles de urea sérica entre cada diálisis, por lo que se aconseja mantener la ingesta proteica entre 1-1.5 g/kg/día; el sodio de 30 mg/kg y el potasio a 40 mg/kg/día, con los ajustes necesarios basados en los requerimientos metabólicos individuales.

FACTORES DE RIESGO

En el proceso de selección del receptor, se toman en cuenta los pacientes considerados de bajo riesgo. Se consideran pacientes de bajo riesgo a aquéllos cuya edad va de 17 a 44 años, con enfermedad renal primaria sin complicaciones, sin enfermedades intercurrentes o padecimientos sistémicos de cualquier tipo, con tracto urinario bajo normal, que no han presentado sangrado del tracto gastrointestinal y que se encuentran libres de infecciones o padecimientos neoplásicos.

Los factores considerados de alto riesgo incluyen: a) niños menores de 16 años; b) adultos mayores de 45 años; c) diabetes mellitus; d) anormalidades en el tracto urinario; e)



antecedentes de sangrado por úlcera péptica; f) trastornos psiquiátricos severos; g) enfermedad coronaria o del miocardio; h) lupus eritematoso; i) poliarteritis nodosa; j) cistinosis; k) tuberculosis inactiva; o l) enfermedad hipertensiva mal controlada. Los pacientes mayores de 45 años que reciben el trasplante de donador cadavérico constituyen el grupo de mayor riesgo, observándose una elevación en los porcentajes de mortalidad por sepsis, como consecuencia de las altas dosis de esteroides que reciben cuando se presentan episodios de rechazo.²⁹

Algunos cultivos contaminados de perfusatos son debidos a contaminación exógena, lo cual es una evidencia del riesgo del trasplante por una contaminación bacteriana del riñón. Un injerto infectado transplantado puede tener serias complicaciones en la inmunosupresión del receptor.⁴³

RIESGO QUIRÚRGICO DEL RECEPTOR

El riesgo quirúrgico del receptor está determinado por factores como la edad, la presencia de una patología orgánica, y factores derivados de la respuesta a la diálisis para corregir las alteraciones metabólicas secundarias a la uremia. Las alteraciones derivadas del estado urémico, son las responsables de los potenciales problemas operatorios y anestésicos.

Los factores determinantes del riesgo quirúrgico del receptor se enumeran en el cuadro 3.6.²⁹

REQUISITOS DEL RECEPTOR PARA INGRESAR AL PROGRAMA NACIONAL DE TRANSPLANTES, ELABORACIÓN DE LA LISTA DE ESPERA Y SELECCIÓN DE PACIENTES PARA RECIBIR UN ÓRGANO

Todos los pacientes de cualquier institución pueden ingresar al Programa Nacional de Transplantes; sin embargo, el paciente debe ser referido por el médico responsable del programa de dicha institución. En ese momento se le asigna al paciente un lugar en la lista de espera y, a partir de entonces, deberá proporcionar mensualmente una muestra de sangre, la cual se utilizará para realizar en la primera ocasión la tipificación de las moléculas de HLA y, más tarde, las pruebas cruzadas en el momento que exista donador disponible.

Esta información es procesada y archivada en computadora, y de esta manera se integra el expediente de cada paciente.



Cuadro 3.6. Factores que determinan el riesgo quirúrgico del receptor

GENERALES

Edad

Presencia de alguna patología orgánica
(cardiovascular, pulmonar, cerebral y/o digestiva)

DERIVADOS DEL ESTADO URÉMICO

Electrolitos séricos:

Hiponatremia. Intoxicación acuosa

Hipernatremia. Depleción de agua

Hipercaliemia

Estado de hidratación:

Sobrecarga de volumen

Insuficiencia cardíaca. Edema pulmonar

Depleción de volumen. Hipoperfusión periférica

Equilibrio acidobásico:

Acidosis metabólica

Estado cardiovascular:

Hipertensión arterial

Pericarditis

Insuficiencia cardíaca. Cardiomiopatía urémica

Enfermedad coronaria. Cardiopatía isquémica

Aterosclerosis obliterante sistémica

Hematológicos:

Alteraciones de la coagulación

Anemia

Inmunológicos:

Inmunosupresión urémica. Infección quirúrgica

Cicatrización tardía:

Desnutrición



Cuando existe un donador disponible, se realizan los estudios de histocompatibilidad (HLA del donador y pruebas cruzadas) utilizando sangre o ganglios linfáticos de éste y la sangre de los pacientes receptores que han entregado sus muestras y que son compatibles en grupo sanguíneo ABO.

La selección de los receptores, se lleva a cabo en base a los siguientes criterios:

- 1.-Fecha de ingreso y número en la lista de espera
- 2.-Porcentaje de sensibilización
- 3.-Número de muestra recibidas
- 4.-Grado de compatibilidad de HLA.

Con lo anterior, se realiza una lista progresiva de posibles receptores, los cuales son localizados a través de su médico y, de no existir ninguna contraindicación, se les asigna el órgano a estos pacientes.¹⁹

EVALUACIÓN Y CUIDADOS DEL DONADOR

TIPOS DE DONADORES

El riñón a ser transplantado puede derivar de un donador vivo relacionado, de un donador cadavérico o de un donador vivo no relacionado pero ligado emocionalmente al receptor (por ejemplo, su cónyuge).²

El empleo de donadores vivos en trasplantes renales se justifica en tres aspectos: 1) la mejoría en la supervivencia del injerto; 2) la capacidad de hacer el trasplante en forma expedita en el momento óptimo, lo cual facilita el manejo del receptor cuando se requiere la intervención quirúrgica; y 3) la dificultad de obtener órganos de cadáver para satisfacer la demanda cada vez mayor de órganos.

DONADOR VIVO

Las ventajas de los donadores vivos relacionados (LRD) son las siguientes: 1) disminuye el tiempo que el receptor debe esperar el órgano; 2) permite un procedimiento quirúrgico planeado; 3) facilitan el trasplante, es decir, la restitución renal primaria sin necesidad de diálisis; 4) disminuye el riesgo de necrosis tubular aguda a causa del tiempo de isquemia fría acortado; 5) incrementa el potencial de compatibilidad HLA; y 6) brinda oportunidad para iniciar y volver óptima la terapéutica inmunosupresora antes de la operación,



con lo que se reduce el riesgo de crisis de rechazo agudo temprano. Sin embargo, la nefrectomía de donador vivo somete al voluntario sano a una operación mortal en potencia sin beneficios físicos para el propio donador. Por lo tanto, es responsabilidad del cirujano garantizar que: a) sean aceptablemente bajos los riesgos físicos del procedimiento; y b) el donador haya otorgado consentimiento informado por su propia voluntad.¹⁵

Cuando se usa el riñón de un donador vivo relacionado se consideran la funcionalidad de su riñón y su estado general de salud. Se hace la comparación de las moléculas del HLA entre el donador vivo relacionado y su receptor, los cuales pueden compartir dos haplotipos, sólo uno (lo que sucede con más frecuencia, por ejemplo entre padres e hijos) o ninguno. Deben compartir el mismo grupo sanguíneo ABO, aunque se puede transplantar un riñón de un donador O a un receptor A, B o AB. También se realiza una arteriografía renal selectiva para descartar la presencia de arterias renales múltiples o anormales en el posible donador.² El cuadro 3.7²⁹ señala los estudios básicos que deben realizarse en el donador, lo cual deberá comprobarse en el preoperatorio inmediato.²⁹

Cuadro 3.7. Selección del donador vivo relacionado

- Historia clínica y exploración física completa
- Examen general de orina y urocultivos
- Biometría hemática completa
- Glucosa en ayunas y glucosa 1 hora postcarga
- Nitrógeno uréico, ácido úrico, Na, K, Cl, CO₂
- Pruebas de coagulación: TP y TTP
- Filtración glomerular por depuración de creatinina
- V.D.R.L. y antígeno B de la hepatitis
- Telerradiografía posteroanterior y lateral de tórax
- Electrocardiografía
- Urografía excretora y arteriografía renal
- Estudios de compatibilidad: ABO, HLA, MCL**
- Curva de tolerancia a la glucosa*
- Búsqueda de bacilos ácido-alcohol-resistentes en orina*
- Anticuerpos antinucleares y células L.E.*

*En casos indicados

** En algunos centros (véase pruebas de histocompatibilidad)



Cuando no se dispone de un donador histocompatible, se selecciona alguno con la menor disparidad en el locus HLA-DR, debido a que es el locus más importante en la regulación del rechazo de injertos.⁶ Los pacientes que comparten escasas moléculas de HLA empiezan bien el primer año o el segundo, pierden el 70% de los injertos hacia el final de la primera década. Otros estudios demuestran que la compatibilidad HLA-DR por sí sola es la influencia más potente, seguida por el HLA-B y en menor grado por el HLA-A.²

Kissmeyer-Nielsen ha reportado un incremento del haplotipo A1, B8, en receptores que han perdido el injerto. Dyer y col. han realizado una observación similar en los receptores con haplotipo extendido A1, B8, DR3. De este estudio, se ha concluido que los receptores transplantados con el mejor pronóstico de supervivencia del injerto poseen el antígeno Aw19.⁴⁰

En otro estudio realizado por Alamartine y col. se concluye que la compatibilidad de las moléculas del HLA es indispensable para el éxito del trasplante renal; y que el HLA-DR se asocia con una mejor o peor supervivencia del injerto, en donde, el HLA-DR6 y el DR10 ejercen un pobre éxito postrasplante. En este estudio se confirma el efecto favorable de la presencia de HLA-Aw19 y de HLA-B21.⁴¹

DONADOR CADAVERÍCO

En el 75% de los pacientes con insuficiencia renal terminal es imposible contar con un donador vivo adecuado, y en estos casos se recurre a un riñón cadavérico.⁷ Aunque la tasa de buenos resultados a largo plazo del trasplante de riñón de cadáver es menor a la lograda con el trasplante renal de un pariente vivo, los datos actuales indican que el 50% de los aloinjertos está funcionando aún a los 10 años. La mayoría de los pacientes con enfermedad renal de etapa terminal, pero sin otras complicaciones que ponen en peligro su vida, deben considerarse candidatos para el trasplante renal de cadáver si no se cuenta con un donador vivo relacionado.¹⁵

Pirsch y col. demostraron que la edad del donador cadavérico no es predictiva de un largo plazo de supervivencia del injerto, así como tampoco la diferencia de edad entre el donador y el receptor. En cambio, el grado de diferencia del HLA-DR entre el donador y el receptor sí es un factor predictivo del curso del injerto.³⁴

En el cuadro 3.8²⁹ se resumen los criterios para la selección del donador cadavérico de riñón.



Cuadro 3.8. Criterios para la selección de donador cadavérico

- Edad: de recién nacidos hasta los 65 años de edad
- Diagnóstico etiológico de la enfermedad que causó la muerte cerebral.
- Estabilidad hemodinámica y diuresis adecuada (más de 1 ml/kg/hr).
- Exámenes de laboratorio con valores normales: BH, QS, PFH, EGO, ES (Na, K, Cl, Mg, P), TP, TTP, CPK-MB, amilasa y gasometría arterial.
- HIV, AgSHB, AcVHC, CMV, VDRL negativos.
- Determinación de grupo sanguíneo
- Exámenes de gabinete normales (rayos X de tórax, ECG).

La muerte cerebral se establece por criterios clínicos estándar y la confirman dos médicos calificados que no sean miembros del grupo de transplantólogos.⁷

Establecido el diagnóstico de muerte cerebral, firmado el certificado de defunción y obtenido el permiso familiar, el donador deberá ser atendido clínicamente. El cuadro 3.9²⁹ señala los principales cuidados.

Cuadro 3.9. Cuidados del donador cadavérico

I. Cuidados ventilatorios:

Intubación endotraqueal

Ventilación con presión positiva intermitente

Evitar hipocapnea extrema y presiones elevadas en vías aéreas

II. Condición hemodinámica y volumen urinario:

Medir la presión venosa central

Mantener una tensión arterial adecuada

Evitar la disminución del volumen sanguíneo circulante

Mantener un adecuado funcionamiento cardíaco

Mantener una adecuada perfusión renal

Hay posibilidad de que se transmita infección por citomegalovirus (CMV) del donador al receptor si el primero era positivo serológicamente. En estos casos todos los receptores deben de recibir ganciclovir durante dos semanas, y a continuación aciclovir durante tres meses como profilaxis.²⁹

Se recomienda que se efectúe biopsia renal si el riñón se obtiene de un donador anciano o que tiene antecedentes de hipertensión y/o diabetes, sobre todo si la concentración



de creatinina se ha incrementado por arriba de 2 mg/dl antes de la procuración del órgano.¹⁵ El paciente con muerte cerebral desarrolla diabetes insípida en un 38 a 87% de los casos como resultado del trauma o isquemia global del cerebro, por lo que hay que tener en cuenta esta eventualidad y tratar de corregirla ya sea con reposición de soluciones o con la administración de vasopresina y así evitar el deterioro del potencial donador.²⁹

MUERTE CEREBRAL

Los criterios actuales de muerte desde el punto de vista médico, legal, ético y religioso, en donde el paciente en estado de coma causado por: traumatismo craneoencefálico, enfermedad vascular cerebral, neoplasias primarias del SNC, daño cerebral permanente secundario a hipoxia, hipoglucemia u otras eventualidades que produzcan un daño cerebral irreversible, y que mantenga actividad cardíaca, estabilidad hemodinámica y función pulmonar satisfactoria (artificial), el enfermo ha fallecido.

La detección oportuna de estos pacientes es muy importante para prevenir y tratar adecuadamente la inestabilidad hemodinámica con el objeto de obtener injertos de la mejor calidad posible, ya que de ello dependerá en gran medida el éxito del trasplante.

De acuerdo a los artículos 317 y 318 de la Ley General de Salud se certificará a la pérdida de la vida en estos enfermos cuando persistan por un periodo mínimo de 6 horas los siguientes datos, los cuales deberán ser avalados por dos médicos independientes al grupo de trasplantes (uno de ellos neurólogo o neurocirujano):

- Ausencia total y permanente de la conciencia.
- Ausencia de la respiración espontánea (necesidad de ventilador mecánico).
- Ausencia de percepción y respuesta a cualquier estímulo externo.
- Ausencia de reflejos de nervios craneales y osteotendinosos.
- Electroencefalograma isoelectrico que no se modifique con algún estímulo.
- Descartar que no existan antecedentes recientes de: hipotermia severa, enfermedad metabólica, ingesta o administración de bromuros, barbitúricos, alcohol u otros depresores del SNC, ya que estas sustancias por su efecto depresor neuronal pueden simular muerte cerebral.



REQUISITOS LEGALES PARA LA DONACIÓN DE UN RIÑÓN CADAVERÍCO

- 1.-Tener el certificado de defunción en documentos oficiales, firmado por un neurólogo, estableciendo la fecha y hora de muerte.
- 2.-Registro de la muerte cerebral en el expediente clínico, firmado por el neurólogo.
- 3.-Considerar al paciente como cadáver para realizar todos los trámites y notas posteriores, así como cuando se realice la solicitud de la donación de órganos.
- 4.- Obtener el consentimiento de la donación por los familiares. Este punto es probablemente el más difícil y delicado. La petición del órganos a los familiares debe ser realizada por un equipo completo integrado por los médicos tratantes, trabajadores sociales, enfermeras, etc.
- 5.-Autorización del ministerio público para la obtención de órganos en aquellos casos en que exista un proceso médico-legal por causa de muerte violenta. Para ello se deberá preetar la documentación oficial, debidamente firmada (certificado de muerte cerebral, aceptación de la donación por los familiares, solicitud para la disposición de órganos y tejidos de cadáveres a los que se ordena la necropsia y un resumen clínico). Se tomará declaración al médico responsable de la toma de órganos (autorizado por el Registro Nacional de Trasplantes) antes y después de la misma, así como a los familiares que autorizaron la donación. Una vez obtenida la autorización del ministerio público por escrito, se procederá a la toma de órganos. Cuando el caso no es médico-legal, después de la autorización por escrito de los familiares se podrá realizar la procuración de órganos.

La obtención de órganos de cadáver para trasplante es muy reducida en México, las principales razones son: negativa para la donación, fallas en la logística institucional para su detección, tratamiento oportuno de los posibles candidatos y, condiciones socio-culturales de la población.¹⁷

REGLAMENTO PARA LA PRÁCTICA DEL TRANSPLANTE

La práctica de trasplantes se encuentra regulada por un marco jurídico constituido por: 1.-La Ley General de Salud, 2.-El Reglamento en Materia de Control Sanitario de la Disposición de Organos, Tejidos y Cadáveres de Seres Humanos y 3.-La Norma Técnica No. 323 para la Disposición de Organos y Tejidos de Seres Humanos con fines terapéuticos.

La Ley de Salud vigente desde 1984 (antes antiguo Código Sanitario) destina el título décimo cuarto al Control Sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos.



La Secretaría de Salud efectúa el control sanitario de la disposición de órganos y tejidos, y para estos efectos cuenta con los Registros Nacionales de Transplantes y de Transfusiones.

El artículo 325, permite en condiciones controladas la toma de órganos y tejidos, así como su trasplante en hospitales y por personal autorizado por la Secretaría de Salud.

Este reglamento conforma el marco jurídico, mismo que en su totalidad es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional en las instituciones de salud pública, privada y social.¹⁴

Una fuente importante de órganos para trasplante está en el donador neonato anencéfalo, ya que cumple con los requisitos legales, y es multidonador.¹⁰

MANEJO PREOPERATORIO DEL RECEPTOR

Es importante que el paciente con insuficiencia renal terminal no se deteriore en sus condiciones generales y deberá continuar el tratamiento de diálisis después de efectuada la evaluación clínica completa antes del desarrollo de complicaciones urémicas. Generalmente, se considera como indicación de diálisis cuando el nivel sérico de creatinina es superior a los 10 mg %, o una depuración de creatinina menor de 3 ml/min, aunque existen excepciones a esta regla.¹⁵

El manejo médico preoperatorio inmediato del receptor se realiza según las necesidades específicas de cada paciente. El cuadro 3.10²⁹ contiene un protocolo de indicaciones médicas preoperatorias que sirve como una guía general. Generalmente se realiza hemodiálisis dentro de 24 horas previas al tiempo quirúrgico, durante ésta se corrigen los problemas de volumen, sodio o potasio. El paciente debe quedar en ayunas 12 horas antes de la cirugía y bañarse con jabón antiséptico horas previas. La preparación del área quirúrgica se pospone hasta 2-3 horas antes del tiempo quirúrgico, para prevenir colonización bacteriana en las frecuentes laceraciones producidas por la navaja de rasurar. El área quirúrgica está comprendida entre los pezones y el tercio medio de los muslos.

Deben tomarse precauciones antes de administrar medicamentos inmunosupresores (véase tratamiento inmunosupresor), u otro tipo de fármacos tales como antihipertensivos, antianginosos, antiácidos, etc.



3.10. Protocolo de indicaciones médicas en el receptor

I. Hemodiálisis:

(a realizarse dentro de las 24 horas que preceden a la realización del injerto, incluyendo pacientes en diálisis peritoneal crónica):

Ultrafiltración de acuerdo a parámetros clínicos

(en base al "peso seco" del paciente)

Concentración de potasio en el líquido de diálisis

Asegurar el acceso vascular funcionante

Asegurarse de que se haya retirado el catéter peritoneal y que el área está libre de infección

Transfundir el paquete globular a un hematócrito superior al 20%

II. Pruebas de laboratorio urgente:

Biometría hemática completa

Glucosa, urea, creatinina

Na, K, Cl, CO₂

III. Telerradiografía de tórax

IV. Electrocardiograma

V. Enfermería:

No administrar nada por vía oral

(dentro de las 12 horas que preceden al tiempo quirúrgico)

Baño (dentro de las 8 horas que preceden al tiempo quirúrgico, usar jabón antiséptico)

Preparar área quirúrgica

(rasurar de pezones a medio muslo, no antes de 3 horas precediendo al tiempo quirúrgico)

Enema evacuante (12 horas antes)

VI. Anestesia:

Valoración anestésica

VII. Paramédico:

Obtener permiso de operación.

VIII. Inmunosupresión:

Iniciar o continuar protocolo de inmunosupresión.



El paciente es hospitalizado seis horas antes si el riñón proviene de un cadáver y de 24 a 48 horas si el órgano es de un donador vivo.²⁹ En pacientes sometidos a diálisis peritoneal se drena el abdomen y se sella el catéter.

La profilaxia con antibióticos disminuye la infección por trasplante. Antes de la operación se administran por vía intravenosa 1 g de cefazolina y 80 mg de tobramicina, los cuales se continúan en las primeras 48 horas postransplante.⁷

En los receptores se deben administrar la vacuna contra el neumococo, contra la hepatitis B, contra la influenza y contra el CMV. Las vacunaciones se realizan durante el periodo de hemodiálisis o postransplante. Es recomendable vacunar a los pacientes en diálisis por lo menos dos semanas antes de iniciarse la terapéutica inmunosupresora.

VALORACIÓN PREOPERATORIA

En el preoperatorio inmediato antes de la realización de un injerto renal, sea de donador vivo o cadavérico, el paciente debe contar con dos series de estudios:

1. Una extensa valoración médica que incluya:

a. Las condiciones que pongan en riesgo la sobrevida del injerto.

b. Identificar alguna patología en el receptor que requiera de tratamiento previo a la cirugía (enfermedad ulcerosa péptica, obstrucción del cuello vesical, parasitosis intestinal) o condiciones que sufrirán una sustancial modificación con la iniciación de la terapia inmunosupresora (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hiperuricemia, gota, hiperlipoproteinemia).

2. Estudios de laboratorio y gabinete con el objeto de identificar y/o confirmar una enfermedad de base no diagnóstica (pruebas de coagulación, electrolitos séricos, EGO, biometría hemática completa, pruebas de función hepática, lípidos sanguíneos, placas de tórax y abdomen, electrocardiograma de esfuerzo).

Ambas series de estudios se engloban en un protocolo de estudio del receptor (cuadro 3.11).²⁹

**Cuadro 3.11.** Protocolo de estudios en el receptor*I. Estudios cardiopulmonares:*

Telerradiografía posteroanterior y lateral de tórax

Electrocardiograma

Ecocardiograma*

Electrocardiograma de esfuerzo y coronarioangiografía*

Pruebas de función pulmonar*

II. Estudios urológicos:

Cistouretrografía transmiccional

Cistoscopia*

III. Estudios metabólicos:

Glucosa en ayunas, nitrógeno de urea, ácido úrico

Colesterol, triglicéridos, lípidos totales

Calcio, fósforo, fosfatasa alcalina.

Serie radiológica ósea

(cráneo, manos, clavículas, lámina dura)

Radiografía de pelvis ósea

(articulaciones coxofemorales)

Na, K, Cl, CO₂

IV. Estudios hepáticos:

Pruebas completas de función hepática

Antígeno B de la hepatitis

Gamagrafía hepática*

V. Estudios hematológicos:

Biometría hemática completa

Pruebas de coagulación (TP y TTP)

VI. Estudios renales:

Filtración glomerular por depuración de creatinina endógena

Examen general de orina y urocultivo

Excreción urinaria de proteínas en 24 horas



Búsqueda de bacilos ácido-alcohol-resistente*

VII. Estudios digestivos:

Serie esofagogastroduodenal
Colon por enema
Colecistografía oral
Endoscopia gastroduodenal*
Rectosigmoidoscopia*

VIII. Estudios de enfermedades infecciosas:

Urocultivo y cultivo de exudado faríngeo
Consulta otorrinolaringológica y dental
Coproparasitoscopia y coprocultivos
PPD
Búsqueda de amiba en fresco*
Cultivo de acceso vascular*
Cultivo de catéter y líquido peritoneal

IX. Estudios inmunológicos:

Antígeno B de la hepatitis
Anticuerpos antinucleares y células LE
Electroforesis de proteínas plasmáticas
Complemento hemolítico
Factor reumatoide*
Antiestreptolisinas*

X. Estudios de compatibilidad:

Grupo sanguíneo ABO
Tipificación del HLA
MCL (cultivo mixto de linfocitos)**
Pruebas cruzadas

XI. Estudios psiquiátricos:

Consulta y evaluación psiquiátrica*

*En casos indicados.

**En algunos centros (véase pruebas de histocompatibilidad)

TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS

Los pacientes mantenidos en hemodiálisis crónica requieren ocasionalmente de transfusiones dependiendo de los niveles de hemoglobina y hematócrito. Hasta hace pocos años, se consideraba perjudicial el uso de transfusiones en los pacientes candidatos a



trasplante renal por la posibilidad de sensibilizarlos a las moléculas de HLA. Actualmente, en muchos centros, los candidatos a trasplante se transfunden con el objeto de crear tolerancia a las moléculas de HLA del donador.²⁹

La administración de transfusiones de sangre donador específicas, prolonga la sobrevivencia de aloinjertos renales donde el HLA no es idéntico.⁵ Alexander y col. concluyeron en sus experimentos que la administración de transfusiones donador específicas y de ciclosporina A por vía intravenosa iniciada 24 horas antes del trasplante, induce una respuesta inmune reducida contra el donador.³³

En el Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán" existe una norma inviolable de no realizar un trasplante antes de no haber alcanzado un mínimo de 5 transfusiones en el periodo preoperatorio. En rara ocasión ha sido necesario realizar sangrías en el receptor con el propósito de aceptar este número de transfusiones sin elevar su hematócrito por arriba de 40%; esto aún utilizando bajos volúmenes de sangre (150-200 cc) y espaciando las transfusiones a una cada semana.²⁹

Charpenter y col. demostraron que los pacientes con enfermedad renal terminal con niveles altos de anticuerpos reactivos (PRA) anti-HLA representaban un grupo en el cual la sensibilización inducida por embarazos, trasplantes previos y transfusiones sanguíneas, retrasaba considerablemente la oportunidad de recibir un injerto.³⁶

La administración de inmunoglobulina intravenosa (IVIg) induce un decremento por un largo plazo de aloanticuerpos HLA-específicos, y además ayuda al curso del trasplante en pacientes sensibilizados.⁴⁹

Existen algunas estrategias para disminuir la presensibilización de los pacientes. Una de éstas es observar tempranamente a los pacientes candidatos a trasplante, para que así la preparación ocurra sin requerir de transfusiones. Otra, consiste en proporcionarles *Eritropoyetina recombinante*, la desventaja de este tratamiento es el alto costo, lo que dificulta ponerlo en práctica en nuestro medio. Otros recursos que protegen al paciente de sensibilizarse, es la administración simultánea de inmunosupresores, pero existen riesgos de infección, así como efectos colaterales.¹⁶

Se han encontrado recientemente varios casos de infección por el virus de la hepatitis C, el cual se transmite a través de transfusiones sanguíneas. Se ha estudiado que la prevalencia de este virus en los órganos de la población de donadores es un riesgo importante de transmisión de hepatitis C a receptores potenciales.²⁷



MANEJO PREOPERATORIO DEL DONADOR

MANEJO PREOPERATORIO DEL DONADOR VIVO

Nefrectomía en el donador vivo

Se prefiere el riñón izquierdo para la donación porque cuenta con una vena renal más larga y es más fácil el acceso hacia el origen de la arteria renal. Después de la anestesia por inhalación, el paciente se vuelve sobre su lado derecho y se fija con una combinación de sacos de arena y tela adhesiva. Se coloca una almohadilla entre las rodillas. Se hace una incisión oblicua en el flanco sobre la duodécima costilla desde el borde del músculo recto por delante y la línea parasternal por detrás. Se seccionan las capas musculares con electrocauterio para permitir la entrada en el espacio retroperitoneal y el desarrollo del mismo. Se identifica la punta de la duodécima costilla, y a partir de ese punto se libera a una distancia de 6 a 8 cm desde sus inserciones musculares. La resección de esta porción de la costilla facilita la exposición del riñón al permitir que se coloque un separador automático. Se abre la fascia de Gerota y se examina el riñón. Si el órgano no se considera adecuado en ese momento, puede interrumpirse el procedimiento y el riesgo para el donador será mínimo. Se identifica el uréter cerca de la vena gonadal y se sigue a lo largo de los vasos ilíacos, en cuyo nivel se secciona con ligadura la parte distal del uréter. Se libera el uréter en sentido retrógrado hacia el polo inferior del riñón. La disección prosigue hasta encontrar la vena gonadal. Se disecciona la arteria renal hasta su origen aórtico. Se colocan pinzas vasculares y los vasos se seccionan. El riñón se coloca en solución tibbia y luego enfriada de Collins antes de la inspección cuidadosa sobre la mesa auxiliar y el transporte del órgano hacia la sala en que se encuentra el receptor para su implantación. A causa del periodo relativamente breve de isquemia fría, el contenido de la solución preservadora tiene menos importancia que cuando se usa un riñón cadáver. Los muñones de la arteria y la vena renal del donador se sobresuturan antes de la ligadura con seda. Después de garantizar la hemostasia suficiente, la herida se cierra por capas con material de sutura absorbible. Con excepción de la sonda de Foley no se coloca otro tipo de dren.

Los cuidados postoperatorios se facilitan mediante analgesia epidural, narcóticos por vía intravenosa. Esto permite la limpieza pulmonar energética, con lo que se evitará que surjan atelectasia importante y neumonía. Se conservará la excreción urinaria a un nivel mayor de 1 ml/kg/hora con líquidos y diuréticos. La sonda de Foley se retira al siguiente día, y el paciente



se da de alta del hospital después que ha recuperado su funcionamiento intestinal entre el tercero o cuarto días del postoperatorio.¹⁵

Terapia profiláctica

La profilaxis antimicrobiana preoperatoria en el donador al mismo tiempo de la nefrectomía, decrece la incidencia de infección en el medio de preservación y en el receptor.⁴⁶

MANEJO PREOPERATORIO DEL DONADOR CADAVERICO

Mientras se realizan todos los estudios y trámites indispensables, los potenciales donadores deben ser manejados de preferencia en el Servicio de Terapia Intensiva para un mejor control hemodinámico, con el objeto de disminuir al máximo o evitar el daño isquémico de los órganos, para obtener injertos de la mejor calidad posible.

Terapia

Con el propósito de reducir la inmunogenicidad del injerto, destruyendo aquellas células no parenquimatosas "en tránsito" por el injerto que son potenciales fuentes de estimulación antigénica, se utilizan drogas citotóxicas en el donador cadavérico. Se administran dosis masivas de ciclofosfamida (3 g), metilprednisolona (5 g) o metotrexato (200 mg), de 4 a 12 horas previas a la nefrectomía del donador cadavérico.²⁹

Técnica quirúrgica

La cirugía se inicia mediante incisión media toraco-abdominal con esternotomía media (incisión que no deforma el cuerpo), se exploran y revisan los órganos a obtener.¹⁷ Se realiza la disección de la vena mesentérica inferior o una de las ramas terminales de la mesentérica superior, la aorta abdominal a nivel de su bifurcación, así como la vena cava infra-renal dejándolas referidas. A continuación se liga y corta el ligamento gastrocólico hasta los vasos gástricos cortos, al igual que los gástricos izquierdos para poder separar el estómago del bloque hepato-pancreato-esplénico previa sección de la primera porción del duodeno con engrapadora automática (GIA-50). Posteriormente se identifican y disecan los vasos mesentéricos superiores a nivel del borde inferior del páncreas, dejándolos referidos y se realiza la sección de la cuarta porción del duodeno con la misma engrapadora automática. Para preservar los órganos hay que exsanguinarlos, perfundiendo con soluciones especiales, y enfriarlos para lo cual se colocan cánulas de perfusión en la vena mesentérica y en la aorta. En la vena cava se coloca otra cánula como vía de salida y así evitar la congestión de los órganos.



Se realiza heparinización sistémica (3 mg/kh, IV), ya que en este momento sólo se colocan las cánulas pero no se inicia aún la perfusión. Después, inicia la perfusión "in situ" de los órganos abdominales con 4 a 6 litros de solución UW a 4 °C, que ha demostrado ser la mejor; su desventaja es el costo y la dificultad para adquirirla por lo que algunos grupos inician perfundiendo con solución de Hartman.

Los órganos torácicos se extraen en bloque y se procede a obtener mediante disección cortante, el bloque hepato-espleno-renal previa ligadura y sección de los vasos mesentéricos en el sitio en que habían quedado referidos, lo cual permite movilizar los intestinos fuera del área quirúrgica. Una vez extraído el bloque abdominal, se coloca en un recipiente con solución fría (estrictamente hipotermia de 4 °C) y se separa inicialmente el bloque renal, en el cual se hará disección independiente para cada riñón, cuidando de no lesionar estructuras vasculares así como el uretero. A continuación se colocan los riñones por separado en triple bolsa de plástico estéril y se guardan en una hielera convencional para su transportación. Por último se toman los ganglios linfáticos para los estudios de HLA y pruebas cruzadas pretransplante.¹⁷

PRESERVACIÓN DEL RIÑÓN

Clasificación y definiciones

Preservación. Mantenimiento de un órgano en un estado *in vivo* o *ex vivo* en condiciones óptimas a temperaturas bajas. Para los trasplantes de riñón se utilizan dos formas de preservación: almacenamiento hipotérmico y perfusión hipotérmica pulsátil o no pulsátil.

Almacenamiento hipotérmico. Es una forma de preservación, cuando un órgano se mantiene de 4 a 7 °C después del lavado inicial, y sin perfundirlo antes de transplantarlo.

Perfusión hipotérmica pulsátil. Es una forma de preservación en la que el órgano que se perfunde con plasma de 4 a 7 °C, haciéndolo circular por medio de una bomba pulsátil, antes del trasplante.

Perfusión hipotérmica no pulsátil. Es una forma de preservación parecida a la anterior, excepto que la bomba que se utiliza para la perfusión no es pulsátil.

Oxigenación hiperbárica. Es una forma de preservación, en la que el oxígeno, a una presión superior a la atmosférica, se utiliza en la perfusión.

Solución para lavado. Es una solución que se usa para el enjuague inicial, inmediatamente después de la extracción del órgano y antes de la preservación o del trasplante.



Isquemia. Es la privación del oxígeno y de la oxidasa, debida a la disminución de la perfusión. La *hipoxia* es el resultado del aporte inadecuado de oxígeno, pese a una adecuada perfusión. La *anoxia* es la falta absoluta de oxígeno.

Tiempo de isquemia caliente. Es el tiempo transcurrido en un órgano sin perfusión o con perfusión mínima, a temperaturas normales, entre el momento de la escisión y el primer lavado o enjuague frío.

Tiempo de isquemia frío. Es el tiempo transcurrido en un órgano desde el momento del enjuague en frío hasta que se le coloca en condiciones de preservación.²⁹

Una vez que el riñón se ha extirpado, se procede a preservarlo. La preservación efectiva del riñón transplantado es esencial. La duración de la perfusión (tiempo de isquemia frío) deberá ser menor de 48 horas.⁶ Si los riñones se conservarán por más de 48 horas, lo ideal es preservarlos en una máquina preservadora de riñones¹. Esto permite disponer del tiempo necesario para resolver diversos problemas de tipificación, transporte, selección y realización de pruebas cruzadas². Siempre que el enfriamiento haya comenzado en los 30 minutos siguientes al cese del suministro sanguíneo al riñón (tiempo de isquemia tibia), éste tendrá una elevada posibilidad de funcionar adecuadamente en el receptor.⁶

Almacenamiento hipotérmico

El almacenamiento hipotérmico es el método más sencillo de preservación y el más económico. Sin embargo, su confiabilidad depende del tiempo de preservación y del tipo de solución que se utilice. Cuando se usan soluciones de cristaloides intracelulares se logran hasta 18 horas de preservación. Generalmente, el almacenamiento hipotérmico resulta efectivo durante 12 a 18 horas usando la solución de Collins C-3.

Perfusión hipotérmica pulsátil

El almacenamiento del riñón por perfusión hipotérmica pulsátil con plasma crioprecipitado (PPF) permite conservarlo durante 24 a 48 horas.

Composición del perfusato

El cuadro 3.12²⁹ muestra la composición de varios perfusatos utilizados para la perfusión hipotérmica pulsátil.

Los primeros perfusatos que se utilizaron como el plasma sin tratamiento, sangre u otras soluciones a base de sangre, no dieron buenos resultados en las perfusiones de 24 horas.



Por el contrario, el plasma crioprecipitado dio resultados satisfactorios durante perfusiones de hasta 72 horas. Entre otros perfusatos utilizados en la perfusión hipotérmica pulsátil se pueden citar: la fracción del plasma gelificada de óxido de silicio, y una combinación de PPF y albúmina.²⁹

Cuadro 3.12. Composición final de algunos perfusatos en la perfusión hipotérmica pulsátil

<i>PLASMA CRIOPRECIPITADO</i> (PPF)		<i>ALBÚMINA</i>		<i>FRACCIÓN PROTEÍNIC</i> <i>DEL PLASMA</i>	
Cantidad	1000 cc	Albúmina	250 ml (62.5 g)	Cantidad	500 ml
K ⁺	4.0 mEq	ClNa	680 ml (115 mEq)	ClNa	25 mEq
Na ⁺	137 mEq	SO ₄ Mg 50%	3.6 ml (14.4 mEq)	ClK	4 mEq
Cl ⁻	103 mEq	ClK	2.7 ml (5.4 mEq)	HCO ₃ Na	6.9 mEq
SO ₄ Mg 50%	8 mEq	HCO ₃ Na	15.7 ml (13.8 mEq)	SO ₄ Mg 50%	4 mEq
Manitol	5 mg	Dextrosa	141 ml (7.0 g)	Dextrosa	1 mg
Insulina	80 U	Insulina	1 ml (100 U)	Insulina	60 U
Penicilina G	250,000 U	Penicilina G	1 ml (250,000 U)	Penicilina	250,000 U
Tintura de		Agua estéril	56.2 ml	Tintura de	
fenolsulfonftaleína	2 ml	Tintura de		fenolsulfonftaleína	2 ml
		fenolsulfonftaleína	2 ml		

Los efectos crioprotectores de la glicina son útiles en las soluciones de preservación o como un agente que suprime la lesión de la perfusión. Además, la glicina protege a los túbulos renales de lesión hipóxica, y tiene la ventaja de ser citoprotectiva para las membranas celulares.⁴⁷

La activación de la fosfolipasa A₂ y de la fosfolipasa C durante la preservación y la perfusión ha demostrado intervenir en la falla del injerto. Experimentos realizados por Schilling y col. sugieren que en la perfusión pulsátil, la inhibición de la síntesis de tromboxano y de leucotrienos incrementa y mejora el tiempo de preservación renal.^{53,54}



Perfusión hipotérmica no pulsátil

Las técnicas de perfusión no pulsátiles son mejores que las pulsátiles, principalmente cuando el tiempo de perfusión excede de las 24 horas; hay menos edema, menos presión y mejores características histológicas.

Oxigenación hiperbárica con perfusión

La oxigenación hiperbárica se ha utilizado con éxito en la preservación experimental de órganos enteros durante 24 a 47 horas.

Para la utilización de los métodos antes mencionados con objeto de almacenar el riñón, deben tomarse en cuenta algunos factores, tales como el tiempo de isquemia reciente, las características hemodinámicas del donador, el tratamiento previo del donador para la protección del órgano, la duración de la preservación y el tipo de solución utilizada. Si se presenta isquemia temprana y las condiciones del donador no son buenas en el momento de la recolección del injerto, se debe elegir cuidadosamente el método de preservación que se utilizará.²⁹

Zong-Li y col. experimentaron diferentes métodos de conservación del aloinjerto renal y concluyeron que el proceso de preservación hipotérmica profunda causa serios daños en el riñón; el simple lavado con un agente crioprotector tiene efectos nocivos sobre el mismo; el congelamiento causa daños en la estructura del glomérulo y de los túbulos renales; además, el descongelamiento puede destruir la estructura renal.²⁸

Soluciones de lavado

Las dos soluciones de lavado usadas más comúnmente en el mundo son la solución de Collins y la solución básica citratada. Las principales características de estas soluciones son altas concentraciones de potasio, fosfato y manitol, mezcladas con soluciones básicas hipertónicas o isotónicas de citrato.¹

En el centro de trasplantes de Essen (University Hospital, Alemania) se investigó la eficacia de diversas soluciones en la preservación de riñones de cadáveres. Se compararon las siguientes soluciones: Euro-Collins, usada extensamente en este centro entre 1988 y 1992; la solución HTK (histidina, triptófano y cetoglutarato) utilizada para preservación de hígado y la UW (University Winsconsin) para preservar páncreas e hígado. Se demostró que la solución HTK y UW tuvieron el mejor resultado sobre la supervivencia del riñón a los tres años



postrasplante, es decir que no fue necesaria la diálisis; 82% y 79% respectivamente. La supervivencia con la solución Euro-Collins fue de 68%. También se demostró que por debajo de 24 horas del tiempo de isquemia fría, las soluciones HTK y UW controlaban los efectos que tenían los diferentes tiempos de isquemia fría sobre la tasa de funcionalidad inicial del riñón, lo que no sucedía con la solución Euro-Collins.⁴ La solución UW disminuye el edema celular inducido por la hipotermia, la acidosis intracelular, el edema extracelular durante el lavado y el daño mediado por radicales libres.

Composición de la solución Collins:

Contiene potasio (110 mM), sodio (30 mM), sulfato (30 mM) fosfato de magnesio (57.5 mM), y glucosa (140 mM). Esta solución ha sido modificada en los diferentes centros de trasplante.¹⁵

Fármacos utilizados

Se utilizan varios fármacos antes de hacer la toma del injerto, durante su recolección y durante su almacenamiento hipotérmico o mediante perfusión, con objeto de proteger los riñones. Las drogas más usadas son los esteroides y, entre ellos, la metilprednisolona que se utiliza antes de la recolección y durante la preservación para obtener una función renal máxima después del trasplante. Los esteroides estabilizan los lisosomas de las células, y, en consecuencia, la producción de enzimas líticas son reducidas. Además los esteroides disminuyen el edema y mejoran la función durante o después de la toma del injerto, todo esto mejora la supervivencia del injerto. Durante la perfusión, los esteroides y la metilprednisolona, son útiles en el perfusato en una proporción de 250 mg/l.

El manitol y la furosemida se usan durante la recolección, para mejorar la diuresis. El alopurinol, que es un inhibidor de la xantina-oxidasa, se ha utilizado en la preservación del riñón con objeto de mejorar los resultados de la preservación y del trasplante.

El efecto de las drogas en los riñones isquémicos aún no está claro.

Consideraciones importantes

Para obtener mejores resultados, además de utilizar técnicas ideales de preservación o perfusión, se deben seguir ciertos criterios durante el curso de la preparación del donador, la recolección del injerto y la preservación previa del trasplante.



Existe un promedio del 20 al 40% de insuficiencias renales postransplante, en los riñones perfundidos 24 horas para su preservación y en los conservados de 12 a 14 horas de almacenamiento hipotérmico. Cuando existe un tiempo de isquemia caliente, aumenta la frecuencia de disfunción renal postransplante de una manera proporcional al aumento de la isquemia. Se deben evitar periodos largos de isquemia caliente y no sobrepasar los 10 minutos. Una vez que se ha extirpado el riñón, se lava con solución de Ringer lactado, con 10,000 unidades de heparina por litro. En los casos de donación cadavérica, inmediatamente se coloca el riñón bajo perfusión hipotérmica pulsátil, o en solución para almacenarlo bajo hipotermia.

Si la presión arterial del donador y su estado general cardiovascular es bueno antes de la toma del injerto, y su función renal es normal, entonces la respuesta del riñón transplantado será excelente. Si ocurre hipotensión durante el periodo de recuperación del donador cadavérico se puede administrar dopamina.

Con el objeto de disminuir la tasa de insuficiencias renales postransplantes en los riñones perfundidos, se han aumentado las concentraciones de proteínas en el perfusato. Otro factor importante es el pH. Los riñones que mantienen un pH neutro funcionan mejor en el periodo postransplante que los riñones con alcalosis o acidosis.²⁹

TRANSOPERATORIO

En el quirófano, ya bajo anestesia general, se coloca un catéter venoso central por punción percutánea, en la subclavia o la yugular, y se asegura su posición adecuada por medio de rayos X. Es indispensable monitorizar la presión venosa. Se coloca también una sonda de Foley con técnicas asépticas y se realiza una irrigación repetida con agua de irrigación la cual contiene kanamicina.. Finalmente se instilan 200 ml de la solución de irrigación que se dejan permanentemente pinzando la sonda. Esta sonda se liberará al completar la implantación ureteral. El volumen y naturaleza de las soluciones transoperatorias dependen de diversas observaciones.(Véase cuadro 3.13).²⁹

TÉCNICA QUIRÚRGICA EN EL RECEPTOR

El riñón obtenido del donador vivo o cadavérico se lleva a la sala de operaciones en donde se encuentra el receptor. Después de aplicar anestesia general o epidural, se coloca una



sonda Foley de calibre 22 para distender la vejiga con solución antibiótica (50, 000 unidades de bacitracina/1 g de kanamicina por litro), para facilitar la identificación transoperatoria. Es importante llenar la vejiga por gravedad, porque la aplicación de presión puede desgarrar la mucosa de alguna víscera. Se hace una incisión de Gibson en los cuadrantes inferiores derecho o izquierdo. La elección del sitio de implantación se basa en el grado de enfermedad vascular periférica. En general, se prefiere la fosa ilíaca derecha.

Los tejidos se seccionan con electrocauterio y se desarrolla la cavidad retroperitoneal. Los vasos epigástricos se seccionan entre ligaduras. Los tejidos linfáticos que se encuentran sobre la arteria y la vena ilíaca se seccionan entre ligaduras con el objeto de reducir el riesgo de formación postoperatoria de linfocele. El vaso preferido para la entrada de líquido es la arteria ilíaca interna, a menos que se encuentre muy aterosclerótica y con pruebas de placa densa. Se resuelven las complicaciones vasculares relacionadas con el aloinjerto (tanto tempranas como tardías) mediante control de este vaso sin poner en peligro la circulación de sangre hacia la extremidad. Se moviliza la arteria y se secciona a nivel de su trifurcación, lo que permite el establecimiento de una anastomosis terminolateral con la arteria renal. En ocasiones se pueden utilizar los vasos trifurcados en caso de arterias renales múltiples ampliamente espaciadas.

En los casos de enfermedad distal entre la arteria ilíaca interna se puede efectuar una anastomosis poco después del origen de esta arteria ("anastomosis inmediata"). Se recurre a la arteria ilíaca externa cuando no es adecuada la ilíaca interna. El sitio anastomótico debe estar tan libre de placa como sea posible, porque la endarterectomía entraña el riesgo de que se eleve un colgajo distal, que pondrían en peligro el flujo sanguíneo hacia la extremidad ipsolateral. Para volver mínimo el riesgo del linfocele, se disecciona sólo un tramo de arteria para liberarlo del tejido adherente. Se disecciona la vena ilíaca externa de manera semejante. La vena hipogástrica puede seccionarse en pacientes cuya complexión corporal impide la movilización adecuada de la vena externa. La vena del trasplante se anastomosa en forma terminolateral, y después se hace la anastomosis arterial. (Fig. 3.14)¹⁵

Durante las anastomosis, el riñón se conserva frío mediante aplicación externa de solución salina helada con objeto de prevenir su calentamiento, que incrementa el metabolismo. Se administra una solución de 50 g de albúmina, 12.5 g de manitol y 100 mg de furosemida antes de quitar las pinzas para promover la diuresis inmediata. Además se pueden administrar 100 meq (dos ampolletas) de bicarbonato de sodio para corregir la carga ácida liberada por el órgano almacenado.



Cuadro 3.13. Protocolo de indicaciones médicas transoperatorias en el receptor

Monitorización cardiovascular:

Colocación de catéter venoso central (percutáneo; confirmar posición por medio de rayos X)

Colocación de electrodos precordiales para el monitoreo electrocardiográfico continuo

Colocación de sonda de Foley:

Irrigar vejiga con 500 ml de agua de irrigación conteniendo 1.0 g de kanamicina, instilar 200 ml de la solución de irrigación y pinzar la sonda

Preparación del área quirúrgica:

Definir área, de pezones a medio muslo. Lavado mecánico continuo durante 10 min. con isodine espumoso

Inmunosupresión:

El paciente deberá recibir 1 g de metilprednisolona, por vía intravenosa, inmediatamente antes de liberar las pinzas vasculares de las anastomosis ya terminadas

Soluciones transoperatorias:

Parámetros a considerar: (posterior a la liberación de las pinzas vasculares)

Presión venosa central

Turgencia del injerto

Volumen urinario del injerto

Tolerancia hemodinámica (presión arterial, presión venosa central, frecuencia cardíaca, adecuación respiratoria)

Utilizar: Solución salina 0.9 %

Sangre total

Diuréticos:

Furosemida, 40 mg por vía intravenosa, después de liberar pinzas vasculares

Alternativamente: manitol, 12.5 g por vía intravenosa

Liberar pinza de sonda vesical al completar la ureteroneocistostomía:

Iniciar monitoreo de volumen urinario

Profilaxis de antibióticos:

Iniciar cobertura profiláctica con antibióticos de amplio espectro (ampicilina

1 g IV cada 6 horas o cefalotina 1 g cada 4 horas) al completar las anastomosis vasculares

Entubación endotraqueal:

Mantener hasta completa recuperación anestésica

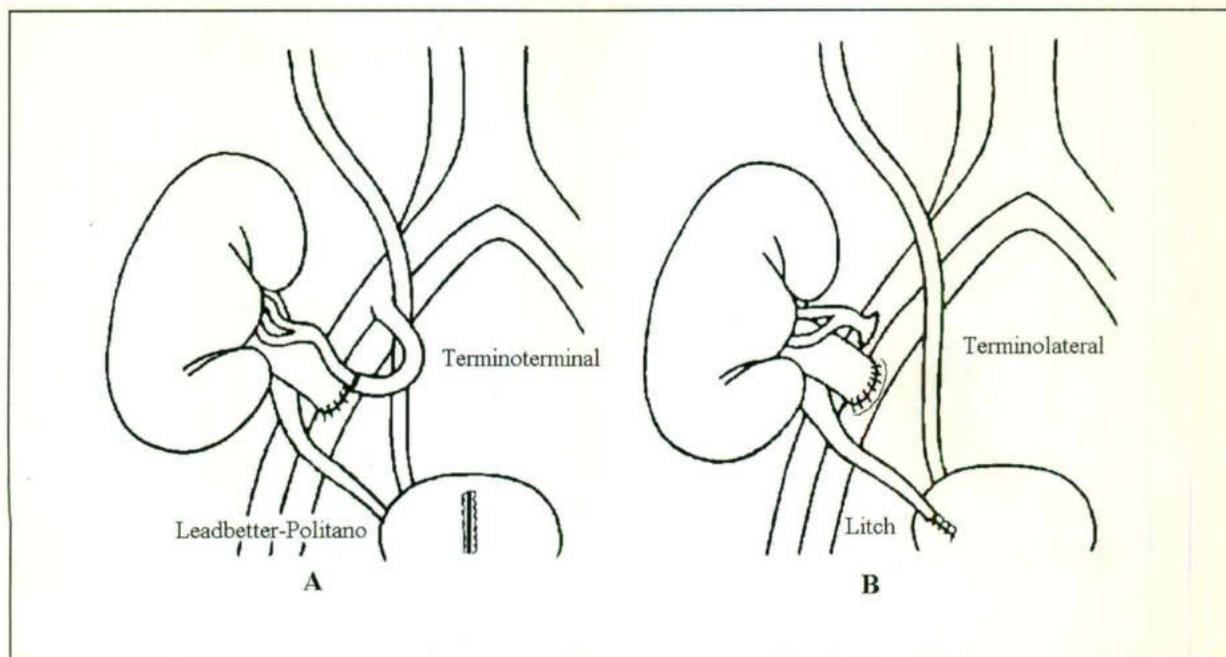


Fig. 3.14. Técnica del trasplante renal heterotrópico. A, método ordinario de anastomosis terminoterminal entre la arteria renal y la arteria hipogástrica y ureteroneocistomía interna (Leadbetter-Politano). B, técnica alternativa con parche de aorta que contiene arteria renal aplicando directamente a un lado de la arteria ilíaca externa y ureteroneocistomía externa (Litch). Las anastomosis venosas se efectúan entre el extremo de la vena renal y un lado de la vena ilíaca externa.

En ocasiones se observa un moteado de la superficie del injerto a causa de espasmo arterial, pero este fenómeno suele resolverse en plazo de 30 minutos. Algunas veces se logra una mejoría mediante aplicación local de papaverina. Para evitar que se lesionen las arterias renales terminales se ligan los puntos que sangran; deben evitarse las grapas metálicas porque pueden obstaculizar la valoración radiográfica futura. Bridan resultados excelentes tanto la técnica anastomótica transvesical (Politano y Leadbetter) como la extravesical (Lich y colaboradores), en tanto la conexión esté libre de tensión, se efectúe a prueba de agua y esté protegida por lo menos por un túnel submucoso de 1 cm para brindar un mecanismo de válvula contra el reflujo en el momento de la micción. Después de garantizar hemostasia suficiente, se cierra la herida por capas con puntos separados de material o absorbible. Con excepción de la sonda de Foley, que debe dejarse colocada durante 48 horas por lo menos, o se coloca de manera sistemática ningún otro dren.¹⁵

Terminadas las anastomosis vasculares, y antes de liberar las pinzas, se aplica 1 g de metilprednisolona en bolo, en forma lenta, durante 5 a 10 minutos. Completado el implante



ureteral, se liberan las pinzas de la sonda vesical, iniciándose la monitorización horaria del volumen urinario. Es necesaria la utilización de antibióticos profilácticos, los cuales se inician al completar las anastomosis vasculares.²⁹

Las ventajas del método del implante del riñón son: a) el sitio de implantación técnicamente es más accesible para colocar el riñón; b) el tiempo de duración de la anestesia es corto; c) en una hora y media aproximadamente el riñón ya está funcionando; y d) durante el monitoreo posttrasplante se realizan biopsias con mayor facilidad y en el menor riesgo para el paciente.²⁹(Fig. 3.15)¹⁵

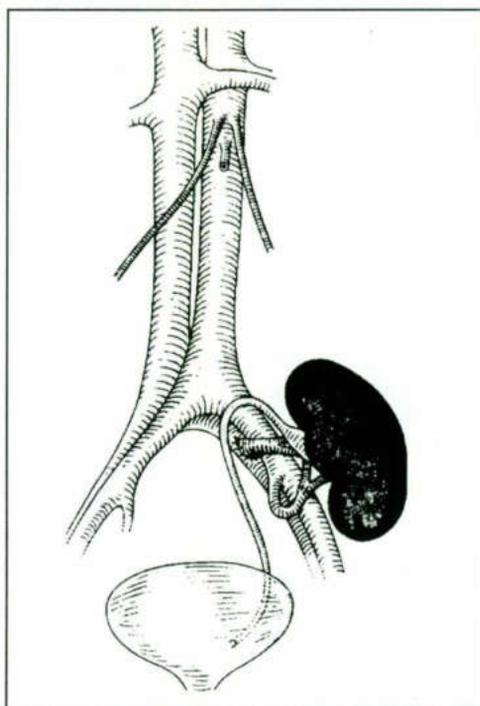


Fig. 3.15. Implantación izquierda del riñón.

TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR TRANSOPERATORIO

Beilman y col. demostraron que la primera dosis de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el receptor CD3 (OKT3) administrados transoperatoriamente, es segura y efectiva.³²(Véase tratamiento inmunosupresor más adelante).



POSTOPERATORIO INMEDIATO

El paciente es admitido a un cuarto individual y colocado en aislamiento protector estricto (cuadro 3.16).²⁹ Durante las primeras horas del postoperatorio, es indispensable la vigilancia hemodinámica, incluyendo el volumen urinario y los cuidados respiratorios. En ocasiones se observan diuresis en exceso de 500 o de 1000 ml por hora, durante las primeras horas postransplante. Estas diuresis causan hipovolemia con repercusión hemodinámica, que requieren de un rápido reemplazo con solución salina normal. La lesión tubular de tipo isquémico, con limitación en la capacidad de concentración urinaria, es un posible mecanismo de la diuresis masiva postransplante. La secreción de aldosterona en pacientes transplantados con adecuada función renal responde a cambios posturales y modificaciones en la ingesta de sodio. Puede haber pérdidas masivas de potasio.

Una necrosis tubular aguda puede producir oliguria inmediata o ésta puede aparecer tras un corto periodo de funcionamiento del injerto renal.

Se utilizan volúmenes fijos de restitución de líquidos de 200 a 250 ml/hr con una solución mixta media normal salina (0.45 % salina, 2.5 % dextrosa), adicionando cloruro de potasio, dependiendo de las determinaciones séricas. Un programa de tratamiento con antiácidos se debe llevar a cabo como profilaxis del sangrado del tubo digestivo. La herida quirúrgica se atiende, intentando retirar los drenajes lo más tempranamente posible, por lo general a las 48-72 horas.²⁹

La incidencia de infecciones bacterianas tempranas durante el periodo postoperatorio en los receptores es alta. Los microorganismos más comúnmente encontrados a) en el donador son: *K pneumoniae*, *P aeruginosa*, *S aureus*, *S epidermidis* y *E coli*; y b) en la solución de preservación: *K. pneumoniae*, *E. coli* y *S. epidermidis*. Las infecciones bacterianas en receptores ocurren en el 52% de los casos, y llegan a desarrollarse en un 29%. En sólo cinco casos se ha demostrado la transmisión de infección bacteriológica por el donador. El seguimiento de estas infecciones muestra que las bacterias más frecuentes son: *Enterobacter*, *K pneumoniae*, *S epidermidis*, *E coli* y *Enterococcus faecalis*.⁴⁶



Cuadro 3.16. Protocolo de indicaciones médicas del receptor

Admisión a cuarto individual (terapia intensiva si se cuenta con área aséptica)

Cuidados intensivos de enfermería:

Aislamiento protector estricto

Toda persona debe usar gorro, cubrebocas, bata y botas al ingresar al cuarto.

El paciente debe utilizar cubrebocas al abandonar el cuarto

Signos vitales cada hora

Utilizar hoja de flujo horario de cuidados intensivos

Volumen urinario horario

El volumen no deberá disminuir a menos de 50 ml por hora o es superior a 500 ml por hora.

Sonda de Foley

Al sistema de colección cerrado que no deberá violarse. Obtener muestreo por urocultivo por punción con aguja estéril, previa asepsia de la sonda de Foley. Obtener orina para electrólitos de la bolsa de colección.

Mantener Foley hasta el tercer día postoperatorio, y hasta el sexto día en enfermos diabéticos

Catéter de presión venosa central

Avisar si es superior a 12 cm o inferior a 5 cm

Puede utilizarse para obtener muestras de sangre

Cuidados respiratorios

Humidificador con oxígeno al 60 % continuo

Percusión torácica y ejercicios respiratorios

Soluciones

Solución salina 0.45 % en dextrosa al 2.5 %, 200 ml por hora

Utilizar cloruro de potasio, bicarbonato de sodio, de acuerdo a determinaciones periódicas

Dieta

No administrar nada por vía oral durante 12 horas del postoperatorio. Iniciar posteriormente dieta semilíquida a tolerancia.

FACTORES PRONÓSTICOS

Algunos factores pronósticos en el receptor transplantado incluyen: raza, compatibilidad de las moléculas de HLA, sexo, inmunosupresión, enfermedad primaria, y complicaciones renales. Los factores que influyen en la supervivencia del injerto proveniente



de un donador cadavérico son: transfusiones sanguíneas, compatibilidad de HLA-A,B, tiempo de isquemia fría y raza del receptor.⁴⁴

Se ha comprobado que los receptores que comparten los dos haplotipos con su donador tienen un promedio de supervivencia de 25 años, los que comparten un sólo haplotipo tienen 11 años de supervivencia del injerto, y, los que no comparten ningún haplotipo (en el caso de donador cadavérico), sólo tienen un promedio de vida de 8 años.²



IV. INMUNOSUPRESORES UTILIZADOS EN EL TRANSPLANTE RENAL

En los años 50's, cuando comenzaron los trasplantes de riñón, se utilizó la irradiación subletal en todo el organismo con el fin de suprimir la respuesta inmune, para permitir que el receptor aceptara el injerto.² En 1952 se descubrió la 6-mercaptopurina (6-MP), y en 1959 se demuestran sus efectos inmunosupresores; en 1961 se administró por primera vez la azatioprina y en 1963 se combinó con prednisona. En 1966 se usó el suero antilinfocítico en pacientes transplantados. En 1971 se utilizó la ciclofosfamida. En 1977 inició la era de la ciclosporina A, y se hicieron experimentos con el uso de irradiación linfoide total.

En la actualidad, los fármacos más utilizados para la inmunosupresión profiláctica en la prevención del rechazo de injerto renal son: la ciclosporina A, la azatioprina, la prednisona y el suero antilinfocítico.²⁹

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS INMUNOSUPRESORES

La activación del sistema inmune por aloantígenos o por autoantígenos requiere que éstos sean procesados previamente por APC's. El procesamiento y la posterior presentación del antígeno a los linfocitos T está asociada con la elaboración y la secreción de interleucinas por células fagocíticas. Entre estas proteínas, la más importante es la IL-1. Se cree que la IL-1 es un factor esencial para inducir proliferación y diferenciación de algunas células troncales (células stem) en el timo, de las cuales surgirán células T maduras. Los **corticosteroides suprarrenales** bloquean esta serie de reacciones iniciales.(Fig. 4.1).³⁵ Las células activadas se comunican con los linfocitos CD4⁺ y sus receptores detectan el antígeno procesado junto con el MHC de clase II de la APC y con el complejo 3 de diferenciación celular (CD3), indispensable para que se lleve a cabo la activación. El **anticuerpo monoclonal OKT3** es específico para epítomos presentes en el complejo CD3. Como respuesta a diversos estímulos los linfocitos T sufren una expansión clonal, un proceso de proliferación que requiere la expresión de receptores para un factor de crecimiento, la IL-2, y de la producción de esta interleucina por los linfocitos T. Los inmunosupresores citotóxicos clásicos como el



metotrexato, la **azatioprina** y la **ciclofosfamida** actúan por inhibición de la síntesis del DNA, y por lo tanto, impiden el estímulo para la proliferación.

Otra consecuencia de la activación de los linfocitos CD4⁺ es la síntesis y la liberación de una variedad de citocinas, que son las que controlan las respuesta humoral y celular. Este paso de la activación de las células T es muy sensible a la **ciclosporina A** y al **FK-506**.

Por activación de las células asesinas naturales, la inmunidad celular se expresa como citotóxica para las células blanco. La citotoxicidad está mediada por una interacción directa célula a célula, y mediante la secreción de linfotoxinas, interferón y factor de necrosis tumoral. Las acciones de las células asesinas naturales son inhibidas por los **corticosteroides** suprarrenales.

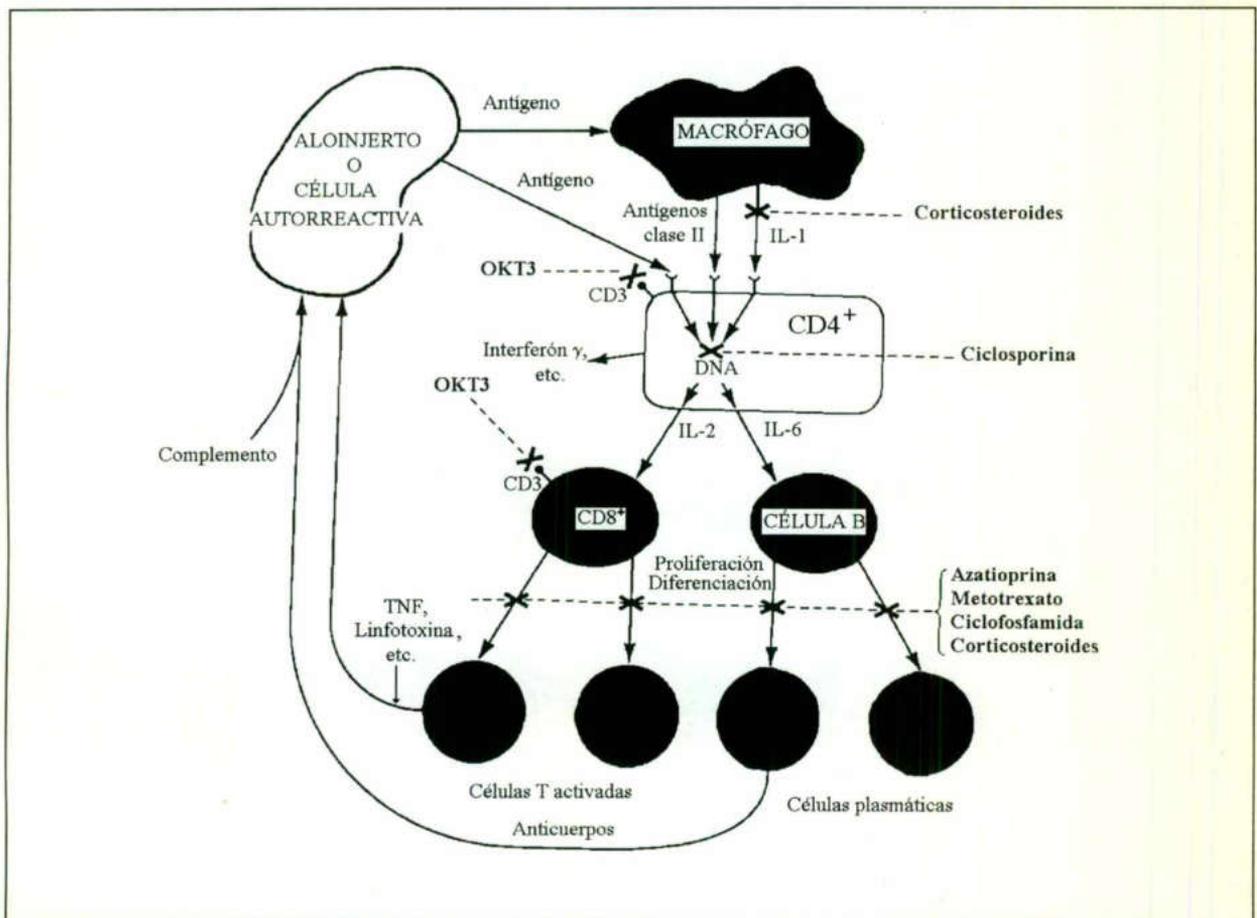


Fig. 4.1. Blancos potenciales para los agentes inmunosupresores. La figura señala los pasos más destacados en la respuesta inmune humoral y celular e indica los sitios más probables de acción de varios agentes inmunosupresores.



La función de los linfocitos CD8⁺ es la regulación de las respuestas celulares a los antígenos y la inhibición de la producción de anticuerpos a través de la respuesta inmune humoral. La actividad estimulante o supresora representa una forma adicional para lograr una inmunosupresión, pero aún no se ha identificado como importante para la acción de los fármacos inmunosupresores.

Como respuesta a un grupo de linfocinas, que son elaboradas por los linfocitos T (en especial IL-4, IL-5 e IL-6), los linfocitos B antígeno-específicos proliferan y se diferencian a células plasmáticas. Esta expansión clonal también es inhibida por agentes citotóxicos que inhiben la síntesis o la función del DNA o del RNA.

La modificación de la respuesta inmune por agentes farmacológicos es más efectiva si el tratamiento se inicia antes de que la exposición al antígeno tenga la oportunidad de inducir una respuesta primaria. La respuesta secundaria o anamnésica es menos sensible a los agentes citotóxicos, pero puede ser inmunosuprimida con grandes dosis de corticosteroides.³⁵

Las terapias de inmunosupresión actuales se requieren de por vida, lo que incrementa la incidencia de cáncer, enfermedades oportunistas y sus efectos colaterales.¹¹

CLASIFICACIÓN DE INMUNOSUPRESORES

*1. Ciclosporina A**

2. Esteroides:

- Naturales: Corticosteroides
Glucocorticoides
- Sintéticos: Prednisona*
Metilprednisolona*

3. Inmunosupresores citotóxicos:

- Azatioprina*
- Ciclofosfamida
- Metotrexato



4. Anticuerpos:

- Suero antilinfocítico*
- Anticuerpos monoclonales (OKT3)

5. Otros agentes inmunosupresores:

- FK-506
- Péptidos sintéticos
- Irradiación linfoide total
- Irradiación del injerto
- Antimetabolitos
- Agentes progestacionales
- Enzimas (p. ej. decarboxilasa)
- Agentes antineoplásicos (p. ej. vincristina)
- Antihistamínicos, etc.

*Inmunosupresores ampliamente utilizados para el tratamiento en el trasplante renal

CICLOSPORINA A

QUÍMICA:

La ciclosporina A pertenece a una familia de péptidos cíclicos producidos por el hongo *Tolypocladium inflatum* Gams. Es un endecapéptido neutro, altamente lipofílico, de naturaleza alifática, constituido por 11 residuos de aminoácidos. La actividad biológica es muy sensible a alteraciones en la configuración estereoquímica y a modificaciones de los residuos en las posiciones 1, 2, 3, 10 y 11.(Fig. 4.2).³⁵

EFFECTOS FARMACOLÓGICOS:

Las concentraciones terapéuticas de la ciclosporina no producen supresión mieloidea. El bloqueo de las vías que afectan la respuesta de los linfocitos produce alteraciones secundarias desfavorables en la función celular. La administración de esta droga produce respuestas celulares pleiótropicas (aumentan la secreción de prolactina), y efectos variables sobre el metabolismo de los eicosanoides y sobre los flujos de Ca^{2+} .

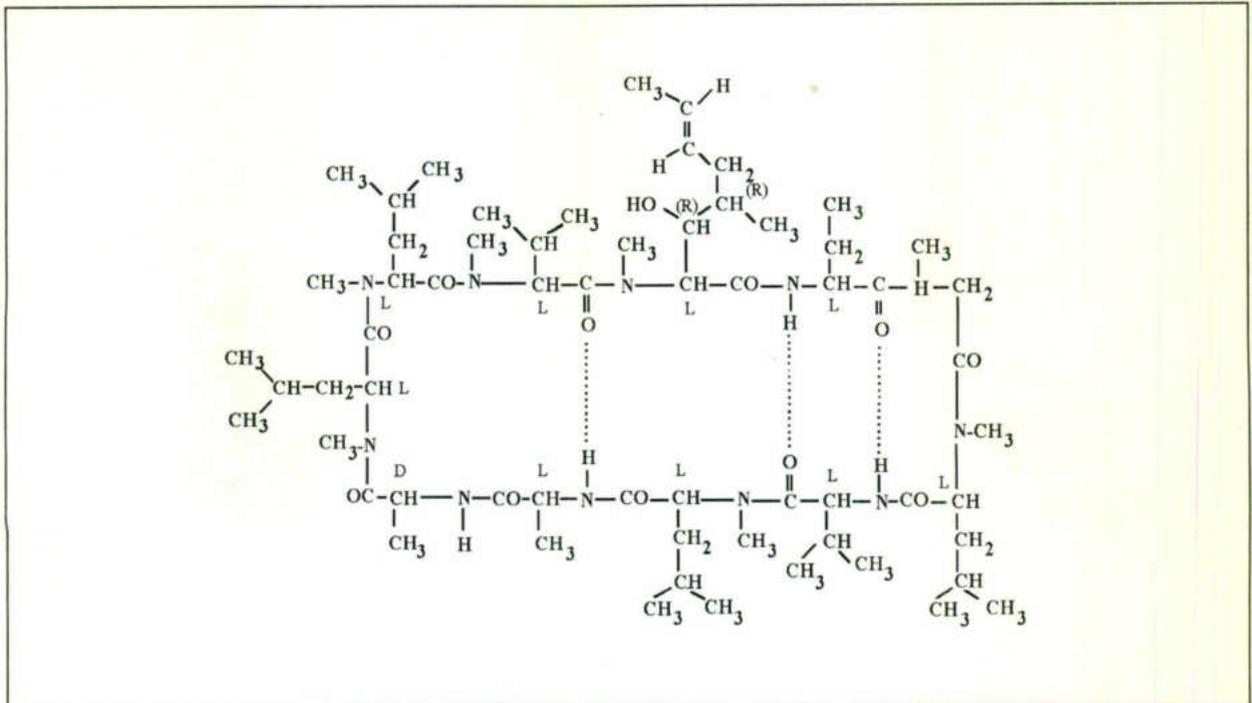


Fig. 4.2. Estructura molecular de la ciclosporina A

MECANISMO DE ACCIÓN:

La ciclosporina inhibe la activación de células T, y en altas concentraciones inhibe la expresión de receptores para la IL-2.

Una familia de proteínas llamadas ciclofilinas, son el blanco molecular para la ciclosporina. Estas pequeñas proteínas se unen en forma selectiva y con gran afinidad a la ciclosporina y a sus análogos activos. Las ciclofilinas se encuentran en abundancia en el tejido linfoideo.³⁵ Las ciclofilinas tienen actividad de peptidil-prolil isomerasa (rotamasa) y catalizan la isomerización cis-trans en los enlaces imida de los residuos de prolina en una proteína. La ciclosporina inhibe estéricamente a la ciclofilina y bloquea su actividad catalítica. Sin embargo, se desconoce cómo la ciclosporina inhibe la transcripción del DNA, pues la ciclofilina no es una proteína unidora de plegado de factores de transcripción del gen IL-2 que son afectadas por la ciclosporina.²

FARMACOCINÉTICA

La biodisponibilidad de la ciclosporina administrada por vía oral varía entre el 20 y el 50%; las concentraciones máximas en plasma se logran entre las 3 y 4 horas. Los eritrocitos contienen entre el 60 y 70% del total del fármaco presente en la sangre. Los linfocitos



contienen entre el 10 y el 20% de la ciclosporina circulante. El remanente del fármaco circula en asociación con lipoproteínas plasmáticas. La ciclosporina es secuestrada por los tejidos. La vida media de depuración en sangre es de 6 horas.

La mayor parte del fármaco se excreta en la bilis después de ser metabolizado en el hígado.

TOXICIDAD CLÍNICA

Del 25 al 75% de los pacientes tratados con este fármaco presentan signos de nefrotoxicidad, más del 30% desarrollan hipertensión, en el 50% temblores, en un 5% convulsiones, del 10 al 30% hirsutismo e hiperplasia gingival, y el 50% presenta actividad alta de transaminasa hepática o concentraciones altas de bilirrubina. Ocasionalmente se observan cefaleas, parestesias, enrojecimiento, sinusitis, conjuntivitis y acufenos.

El tratamiento con ciclosporina está asociado con un aumento de la incidencia de infecciones. La incidencia de enfermedades malignas es baja, pero cuando se combina con otros agentes inmunosupresores, produce linfomas malignos con metástasis en cerebro.

TRATAMIENTO PRETRANSPLANTE

El tratamiento oral se inicia de 4 a 24 horas antes del trasplante con una dosis de 15mg/Kg.³⁵

OBSERVACIONES

La ciclosporina ha aumentado la supervivencia a un año de los pacientes con riñón de cadáver hasta en un 80%, cuando se utiliza junto con prednisona. Con la azatioprina o con la ciclosporina, la vida media tras el primer año es entre 30 y 34 años con donadores de HLA idéntico, entre 11 y 12 con donadores haplo idénticos y de entre 7 y 9 años con donadores cadavéricos.²

Hasta ahora ningún inmunodepresor en uso clínico en el que se incluya a la ciclosporina, o al FK-506 han mostrado influencia de rechazo crónico.¹⁸ El uso del tratamiento inmunosupresor que incluye ciclosporina con horarios terapéuticos establecidos, disminuye la incidencia de rechazo agudo, así como la producción de anticuerpos antilinfocito, con el propósito de reducir las pérdidas del injerto tempranamente.⁴²

En un estudio realizado en 338 pacientes transplantados en el Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán" se demostró la mayor eficacia del uso de un triple esquema



de inmunosupresores (ciclosporina + azatioprina + prednisona) en pacientes que sólo compartan una o ninguna molécula de HLA, a comparación de aquéllos en donde se utilizó un doble esquema de inmunosupresores (azatioprina + prednisona); en donde la supervivencia del injerto es menor.⁴⁸

En otros estudios realizados en donde se utilizó un triple esquema de inmunosupresores con una o ninguna molécula de HLA compatible, la supervivencia del injerto fue mayor en un seguimiento de 5 años.^{50,51}

ESTEROIDES

QUÍMICA

La estructura básica de los esteroides es el anillo de ciclopentanoperhidrofenantreno (fig. 4.3).³⁵ Las cadenas laterales características de estas moléculas, los enlaces dobles y varios radicales dan como resultado estructuras con propiedades androgénicas, estrogénicas, progestagénicas, mineraloactivas, linfoactivas y anti-inflamatorias.

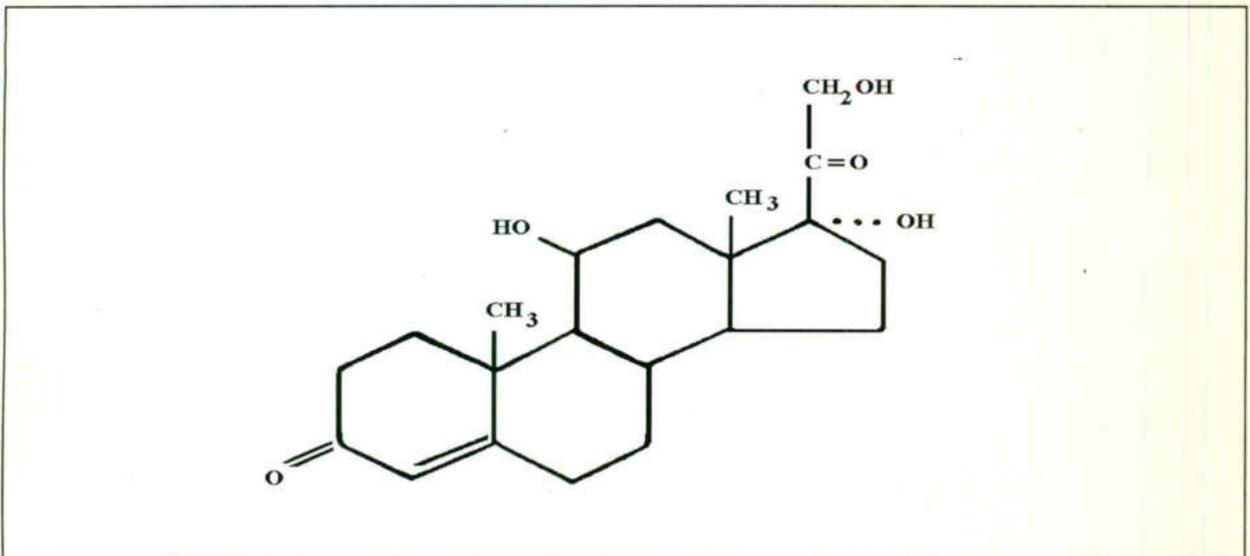


Fig. 4.3. Estructura química de los corticosteroides suprarrenales.

FARMACOCINÉTICA

El cortisol y sus congéneres son efectivos cuando se administran por vía oral, también son administrados por vía intravenosa para alcanzar rápidamente concentraciones elevadas en



los líquidos orgánicos. Los efectos más prolongados se obtienen por inyección intramuscular. Modificaciones en la estructura química pueden provocar alteraciones en la absorción, tiempo de aparición de los efectos y duración de la acción.

Los glucocorticosteroides son absorbidos en sitios de aplicación local, como espacios sinoviales, saco conjuntival y piel. Cuando la administración es prolongada o cuando se aplica en áreas extensas de piel, la absorción puede causar efectos sistémicos.

Los corticosteroides se unen a la globulina fijadora de corticosteroides, que es una glucoproteína, y a la albúmina. Los metabolitos esteroideos conjugados, como el glucurónido y la aldosterona tienen baja afinidad por la globulina. El metabolismo de los esteroideos se produce en el hígado por reacciones de conjugación y la excreción por el riñón.

TOXICIDAD CLÍNICA

Los efectos más comunes por la administración de esteroideos son: apariencia cushingnoide, hipertensión, infecciones, complicaciones gastrointestinales, alteración del metabolismo de lípidos, carbohidratos, proteínas, sal y del agua, así como también alteraciones en el SNC, en huesos, músculos, ojos y en el proceso de cicatrización.³⁵

TRATAMIENTO

La prednisona y/o la metilprednisolona se utilizan profilácticamente en la prevención del rechazo.

Los esteroideos no se administran en caso de HLA idéntico.²⁹

OBSERVACIONES

El fenómeno de rechazo agudo generalmente se presenta en más del 50% de los pacientes con trasplante renal, independientemente del grado de histocompatibilidad, y en más del 80% de los casos es reversible con el tratamiento con corticosteroides.¹⁸

Al usar azatioprina y prednisona, los resultados con donadores familiares compatibles son superiores a los obtenidos con órganos de cadáveres, con una tasa de supervivencia del injerto a un año del 75 al 90%.²



AZATIOPRINA

QUÍMICA

Es un análogo de la purina (fig. 4.4).³⁵ La azatioprina fue desarrollada para disminuir la tasa de inactivación de la 6-mercaptopurina mediante la S-metilación enzimática, la oxidación no enzimática o la conversión a tiourato por acción de la xantino-oxidasa.

MECANISMO DE ACCIÓN

Algunos nucleófilos como el glutatión clivan la droga precursora azatioprina en mercaptopurina; este análogo de la purina es convertido posteriormente en nucleótidos que contienen mercaptopurina que actúan sobre la síntesis y la utilización de los precursores de DNA y RNA. Por lo tanto, la azatioprina inhibe la proliferación de células y de síntesis importantes en la respuesta inmune.

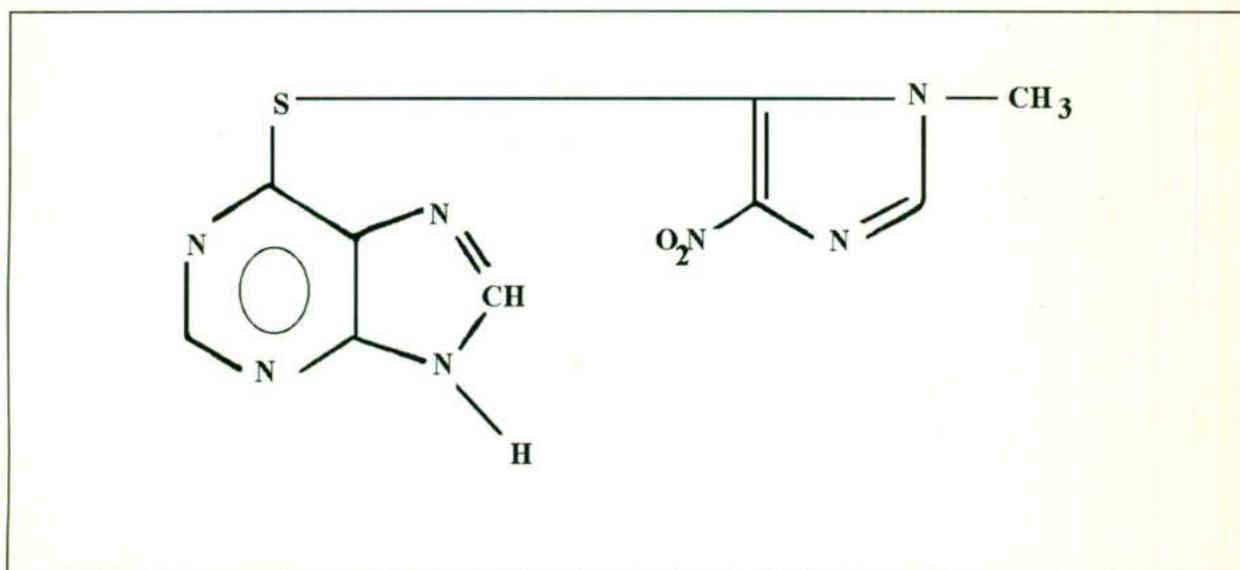


Fig. 4.4. Fórmula estructural de la azatioprina.

TOXICIDAD CLÍNICA

La administración de esta droga puede producir leucopenia, trombocitopenia, náuseas, vómitos y algunas veces toxicidad hepática.³⁵



TRATAMIENTO

El tratamiento profiláctico se inicia con dosis diarias de 3 a 10 mg/Kg antes del trasplante durante 2 días.²⁹

CICLOFOSFAMIDA

QUÍMICA

La ciclofosfamida es una mostaza nitrogenada (fig. 4.5).³⁵ Es un compuesto alquilante.²⁹

MECANISMO DE ACCIÓN

Este fármaco es activado por una reacción catalizada en el hígado y en otros tejidos por el citocromo P₄₅₀ para formar especies alquilantes que interactúan con el DNA.³⁵

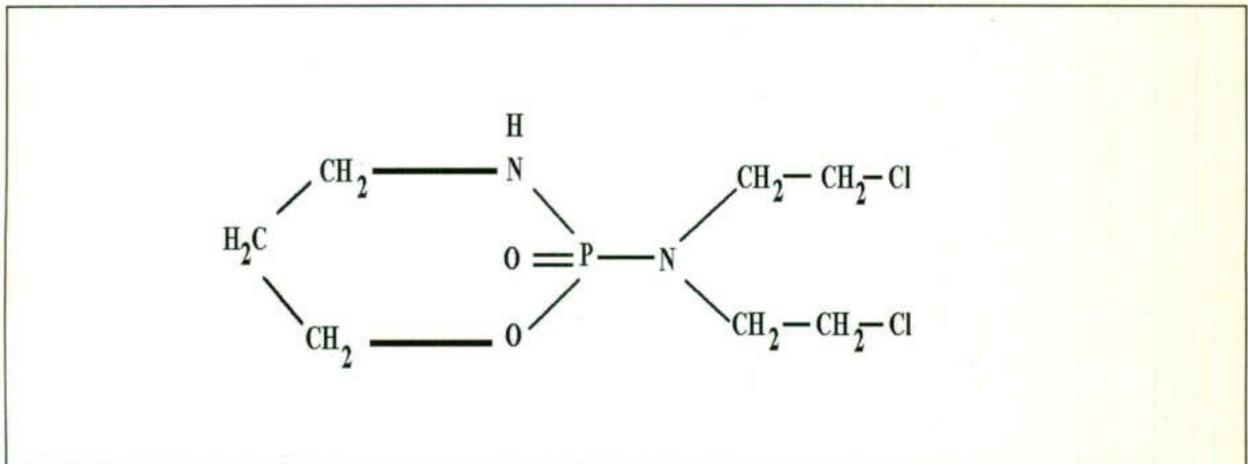


Fig. 4.5. Fórmula estructural de la ciclofosfamida.

TOXICIDAD CLÍNICA

Los efectos adversos más comunes son: perturbaciones en el mecanismo fundamental relacionado con el crecimiento, en la actividad mitótica, en la diferenciación y función celular,³⁵ leucopenia y trombocitopenia.²⁹ También provoca alopecia, náuseas, vómitos, ulceración de mucosas, aumento en la pigmentación de la piel, fibrosis pulmonar intersticial y toxicidad hepática.



FARMACOCINÉTICA

La ciclofosfamida se absorbe por vía oral. El fármaco se activa por el sistema citocromo P₄₅₀ hepático y produce metabolitos activos. Una hora después de su administración oral se alcanzan las concentraciones máximas en plasma. La vida media en plasma es de 7 horas. Se elimina por vía urinaria y fecal.³⁵

TRATAMIENTO

La ciclofosfamida se utiliza en caso de hepatotoxicidad por azatioprina. La dosis diaria es generalmente la mitad de la dosis de azatioprina que recibía el paciente.²⁹

SUERO ANTILINFOCÍTICO

El suero antilinfocítico (a partir de caballo inmunizado con linfocitos o timocitos) disminuye el número de linfocitos derivados del timo e inhibe las respuestas normales de los linfocitos T. La vida media del preparado varía entre 3 a 9 días, en pacientes que se encuentran recibiendo otros inmunosupresores.³⁵

El suero antilinfocítico disminuye los episodios en el rechazo, retrasa el primer episodio de rechazo, disminuye la severidad de los rechazos subsiguientes, y puede disminuir la necesidad de altas dosis de esteroides.²⁹

El 5% de los pacientes presentan enfermedad del suero.³⁵

TRATAMIENTO

Generalmente la dosis comienza el día del trasplante. La dosis media es de 5-30 mg/Kg por día.

OBSERVACIONES

Algunos estudios demuestran una mejoría del 10 al 15% en los resultados de supervivencia del riñón a largo plazo.²⁹

Si se añaden inmunoglobulinas antilinfocito al tratamiento inmunosupresor de pacientes de donador cadavérico, los resultados obtenidos se aproximan a los resultados del injerto renal de donador vivo relacionado, al menos para los primeros dos años tras el trasplante.²



ANTICUERPOS MONOCLONALES

Los anticuerpos monoclonales proporcionan un enfoque selectivo para la inmunosupresión. El preparado comercial es una inmunoglobulina de origen murino (IgG_{2a}) denominado OKT3.

Al formar un complejo con el antígeno (receptor CD3), este anticuerpo monoclonal bloquea la función de todas las células T que poseen este receptor, impidiendo que se inicie la señal de transducción, esencial para la activación celular.

Algunas reacciones adversas al tratamiento son: escalofrío, fiebre, disnea, dolor torácico, sibilancias, alteraciones gastrointestinales y temblores.³⁵

Se han usado anticuerpos que causan inmunosupresión sin lisis de las células, tales como anticuerpos contra CD25 (subunidad α o p55 del receptor de IL-2) que impiden la activación de células T al bloquear su sitio de unión a la IL-2. La principal limitación del uso de anticuerpos monoclonales de ratón es la producción de anticuerpos humanos contra inmunoglobulinas de ratón, lo que elimina la posibilidad de subsecuentes administraciones de estos anticuerpos.²

TRATAMIENTO

El empleo de anticuerpos monoclonales anti-CD3 está indicado como adyuvante para otros inmunosupresores en pacientes que han experimentado rechazo agudo de injerto renal o en regímenes profilácticos. Cuando se emplea este anticuerpo monoclonal, debe reducirse la dosificación de glucocorticoides y azatioprina. Para disminuir las reacciones agudas, la dosis debe ser precedida por la administración de metilprednisolona (1 mg/Kg), seguida 30 minutos después por 100 mg de hidrocortisona.²⁹

FK-506

Es un antibiótico macrocíclico lactona-lactámico que tiene propiedades inmunosupresoras similares a las de la ciclosporina A, pero en dosis significativamente menores. *In vitro* ha demostrado ser 50 a 100 veces más potente que la ciclosporina A. (Fig. 4.6)³⁸ El FK-506 se une a una pequeña proteína con actividad de peptidil-prolina isomerasa, similar a la ciclofilina.

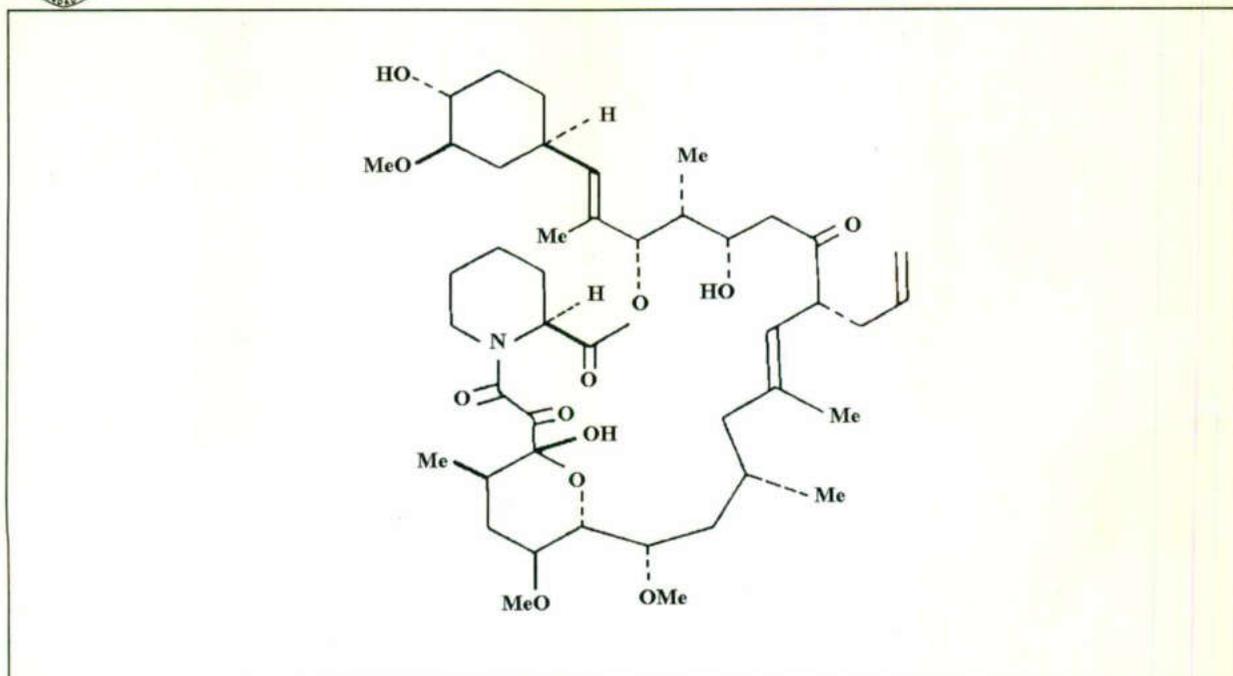


Fig. 4.6. Estructura química del FK-506

La administración del FK-506 ha causado daño renal y vasculitis en algunas especies animales.³⁵

PÉPTIDOS SINTÉTICOS

Recientemente se han utilizado péptidos sintéticos que corresponden a secuencias lineales de moléculas del MHC que inhiben *in vitro* e *in vivo* el rechazo del injerto.¹¹

La administración de péptidos de HLA clase I, inhiben la respuesta inmune contra células o aloinjertos que expresan ambos antígenos de clase I y II. La forma molecular en la cual los antígenos del MHC son administrados *in vivo* determinan si el resultado funcional es tolerancia o sensibilización del paciente.⁵⁵

También se han usado anticuerpos dirigidos contra células T y que están conjugados con moléculas tóxicas como la toxina diftérica o la cadena A de la ricina, o proteínas quimeras, por ejemplo un híbrido de IL-2 con toxina diftérica; sin embargo, no se conocen con detalle los efectos colaterales que pudieran tener.²



IRRADIACIÓN TOTAL DEL TEJIDO LINFOIDE

Esta técnica consiste en irradiar los ganglios linfáticos del cuello, mediastino, retroperitoneales, paraórticos, ilíacos, femorales y del bazo, protegiendo con delantales de plomo las vísceras abdominales, los pulmones y el resto del cuerpo. Se causa daño severo a todo el tejido linfoide, sin afectar la médula ósea de los huesos largos, el parénquima pulmonar, y las vísceras abdominales. Comenzando dos semanas después del trasplante, y continuando un periodo de tiempo prologado, se disminuye la reactividad inmunológica del paciente.

Este método puede ser usado en pacientes a retransplantarse, en los cuales un trasplante es muy difícil por la presencia de una presensibilización severa.

IRRADIACIÓN DEL INJERTO

El método consiste en irradiar el órgano transplantado, con objeto de inactivar las células inmunocompetentes provenientes del donador. No está claro si el uso de irradiación del riñón después del trasplante es buena medida profiláctica. Se recomienda su uso cuando no se puede aumentar la inmunosupresión sistémica, sometiendo al injerto a tres dosis en días alternos de 150 rad cada una.²⁹



V. PRUEBAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

En 1952, Jean Dausset descubrió un antígeno de histocompatibilidad en seres humanos al usar la leucoaglutinación como técnica, la que era poco reproducible, además de requerir grandes cantidades tanto de antisuero como de células. En 1964, Paul Terasaki desarrolló la microcitotoxicidad, técnica ampliamente empleada hasta la fecha en serología.

La serología permitió el conocimiento de las moléculas del MHC de clase I, y cuando se pudieron obtener poblaciones enriquecidas de linfocitos B (por roseteo, con eritrocitos de carnero, por su adherencia a fibras de nylon; o, por la destrucción selectiva con anticuerpos monoclonales) se definieron las moléculas del MHC de clase II, fundamentalmente del locus DR, notándose una gran cantidad de reacciones cruzadas.

A principios de los 80's, los inmunoprecipitados de las moléculas de HLA se sometían tanto a electroforesis en acrilámidica como a electroenfoque, incrementándose la posibilidad de discriminación entre alelos muy semejantes. Actualmente se cuenta con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la que consiste en la amplificación de un gen, utilizando la enzima Taq-polimerasa de *Termofilus acuáticos*. De esta manera ha sido posible determinar la genética molecular de los antígenos de clase II.¹⁶

Las principales pruebas de compatibilidad en trasplante renal se muestran en el cuadro 5.1.²⁹

Para el estudio de la compatibilidad en el sistema ABO se siguen las reglas de transfusiones, considerando al grupo O como donador universal y al AB como receptor universal.

La prueba cruzada sirve para poner de manifiesto anticuerpos anti-antígenos de histocompatibilidad (citotóxicos) presentes en el donador que el paciente pudiera haber formado, ya sea por transfusiones o trasplantes previos. En pacientes inmunizados, se pueden observar oscilaciones en los títulos debidos al compromiso del sistema inmune o bien por tratamientos con actividad inmunosupresora; sin embargo, aunque la disminución de anticuerpos puede llegar a cantidades indetectables, se mantiene la posibilidad de que se desarrolle un rechazo hiperagudo, por lo que se recomienda que los pacientes que estén en espera de ser transplantados se les tomen varias muestras con intervalos mensuales para



efectuar el ensayo con todas ellas. Por otro lado, existen variantes en la prueba cruzada, en cuanto a las células blanco: a) en linfocitos totales; b) en linfocitos T y c) en linfocitos B; y en la temperatura de incubación: a) a 4 °C; b) a temperatura ambiente; y c) a 37 °C.

En relación a la temperatura, la positividad se incrementa conforme baja la misma, lo que se explica por las diferencias de afinidad de los anticuerpos; se considera que lo óptimo es usar temperatura ambiente, ya que a 4 y 37 °C existen tantos falsos positivos y negativos, respectivamente.

Cuadro 5.1. Pruebas de compatibilidad en trasplante renal.

	Donador vivo	Donador cadavérico
Grupo sanguíneo ABO	+	+
Prueba cruzada	+	+
Tipificación de HLA	+	optativa
C4 y factor B del complemento	optativa	optativa
Cultivo mixto de linfocitos	optativa	optativa

En lo que se refiere a la tipificación de moléculas de clase I y II, lo ideal es la compatibilidad completa, ya que las diferencias en los loci DR y DQ disminuyen la probabilidad de sobrevida del injerto.

En algunos centros se confirma la compatibilidad en esta región con el estudio de C4 y el factor B del complemento que, debido a su cercanía de mapeo dentro del cromosoma 6, cumplen con este propósito.

El cultivo mixto de linfocitos también explora la compatibilidad en la región D (DR, DP y DQ). El valor de esta prueba no sólo consiste en estudiar la compatibilidad entre sujetos, sino también explorar la reactividad del aparato inmunocompetente del receptor.²⁹

El ensayo consiste en cultivar juntos los linfocitos del receptor y del posible donador. Si existen diferencias de marcadores de superficie entre las células, entonces provoca una expansión clonal, que corresponde a la fase de *transformación blastoide*. Esto se puede cuantificar al incorporar timidina radiactiva. Además para hacer unidireccional la prueba, a una de las dos poblaciones celulares se le trata previamente, con *mitomicina c*, o bien, se le



irradia para bloquear su capacidad de multiplicarse, sin perder su capacidad de estimular antigénicamente. A la otra población de la mezcla se la deja intacta, para así valorar la magnitud de la respuesta en un sólo sentido. Esta prueba tiene los siguientes inconvenientes: a) ser costosa; b) requerir de personal altamente capacitado; c) ser muy susceptible a contaminaciones; d) tomar mucho tiempo su elaboración (7 días), lo que la deja fuera de la posibilidad de aplicarse en un trasplante cadavérico; y e) la variación biológica influye mucho, al extremo de poder considerarse positiva o negativa entre el mismo par donador-receptor, si se hace en tiempos diferentes. Por todas estas razones en muchos centros se prefiere no realizarla, y sustituirla por una buena tipificación de moléculas clase I y II, y por la determinación de pruebas cruzadas donador-receptor.¹⁶

Dentro del protocolo de estudios previos al trasplante, sobresalen por su importancia los relativos a la histocompatibilidad. En la mayoría de los centros se sigue un programa de trasplante en el que sistemáticamente se determinan: a) compatibilidad de grupo sanguíneo ABO; b) pruebas cruzadas, y c) compatibilidad en el sistema HLA clase I y II.²⁹

TIPIFICACIÓN DE HLA CLASE I Y II

PRINCIPIO:

Los linfocitos son incubados con anticuerpos específicos contra moléculas de HLA. Si las moléculas expresadas en la superficie de los linfocitos son reconocidas por los anticuerpos adsorbidos al pocillo de la placa de Terasaki, se forma un complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac). El complemento de conejo se activa por la reacción Ag-Ac y produce lisis celular. Por lo tanto, una reacción positiva (presencia de antígeno), está determinada por la lisis celular, al contrario de la reacción negativa (sin daño a la estructura de la célula); para facilitar la identificación de células positivas (destruidas) y negativas (intactas) se tiñen con un colorante supravital (eosina), y se observan al microscopio.³⁷ (Véase fig.5.2)⁸

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 20 ml de sangre con anticoagulante (EDTA o heparina)

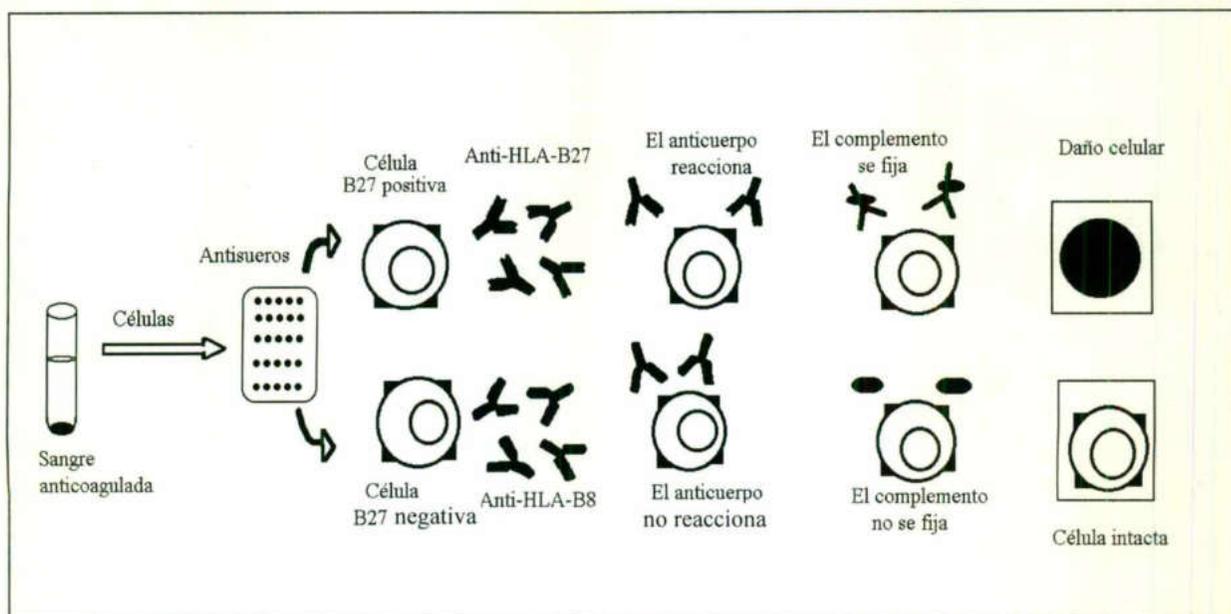


Fig. 5.2. Prueba de microcitotoxicidad para las moléculas de HLA. Las células mononucleares (linfocitos y monocitos) se separan por gradiente de centrifugación con Ficoll-Hypaque. Entonces se agregan las células a los micropozos de una placa de microtitulación que contiene antisueros para las moléculas de HLA. Se muestran ejemplos ilustrativos de una célula B27 positiva en los pozos con antisero anti-B27 y antisero anti-B8. Los anticuerpos anti-B27 se unen a los antígenos HLA-B27 en la superficie celular, fijan al complemento y esto hace que la célula sea lisada. En estas condiciones la eosina entra a la célula la cual se observa de color rojo bajo el microscopio de contraste de fases. En cambio, los anticuerpos anti-B8 no pueden unirse a la célula, el complemento no se fija, por lo tanto no hay lisis y la célula viva no capta la eosina, apareciendo sin teñir en el microscopio. Los patrones de reacción permiten que la célula sea tipificada como HLA-B27 positiva, B8 negativa. Este análisis se emplea para tipificar moléculas HLA de clase I y con algunas modificaciones, para tipificar antígenos HLA-DR y -DQ (véase técnica más adelante).

MATERIAL Y EQUIPO:

- Tubos Falcon de polietileno de 50 ml
- Pipetas Pasteur
- Gradilla para tubos Falcon
- Tubos Fisher de poliestireno de 1 ml
- Gradilla para tubos Fisher
- Pipetas automáticas de 1000, 200 y 100 μ l
- Bulbos



- Contenedores para la eosina, complemento y PBS
- Cajas de tipificación de moléculas HLA con antisuero específico
- Hematocitómetro o cámara de Neubauer
- Micropipetas Hamilton con dispensadores individuales y múltiples, de 1 y 5 μ l, respectivamente
- Puntas para pipetas automáticas
- Cronómetro o reloj
- Centrífuga Fisher 59A
- Centrífuga para tubos Falcon
- Congelador de -70°C , para conservar las cajas con antisueros, el complemento y los linpho-kwiks (I y II)
- Refrigerador de -4°C , para conservar el PBS, el AKC y las placas montadas
- Incubadora de 37°C
- Microscopio compuesto
- Microscopio invertido de contraste de fases
- Piano para leer células (opcional)

REACTIVOS:

- EDTA. Na_2 5mM o heparina
- PBS
- AKC
- Eosina Y al 5%
- Formalina al 40%
- Ficoll radialar o Ficoll-Hypaque o cualquier otro Ficoll comercial
- Medio de cultivo celular RPMI o McCoy
- Linpho-kwik I y Linpho-kwik II (anticuerpos monoclonales para la separación de linfocitos B)
- Complemento de conejo

PROCEDIMIENTO:

1. Tomar 20 ml de sangre, anticoagularla (con EDTA o heparina), colocarla en un tubo Falcon de 50 ml, y diluir con PBS hasta 30 ó 35 ml.
2. Colocar una pipeta Pasteur en el tubo anterior y a través de ésta agregar con otra pipeta poco a poco el Ficoll, de manera que el Ficoll quede en la parte inferior del tubo, formando dos fases; se agregan aproximadamente 5 ml por cada 10 ml de sangre.
3. Centrifugar a 1500 r.p.m. durante 30 min.



4. La capa de mononucleares (linfocitos y monocitos) que queda en la interfase del Ficoll y el plasma con PBS se extrae con pipeta Pasteur y se coloca en otro tubo Falcon, se agrega PBS hasta 50 ml con la finalidad de lavar las células.
5. Centrifugar de 1500 a 2000 r.p.m. durante 10 min.
6. Decantar el sobrenadante y resuspender el paquete de mononucleares en 1 ml aproximado de medio RPMI o McCoy. Transferir la suspensión celular a un tubo Fisher.
7. Centrifugar dicho tubo por un segundo a velocidad 7 (4500 g) en una microcentrífuga (Fisher 59A). En este paso se sedimentan los granulocitos y monocitos contaminantes, en el sobrenadante están resuspendidos los linfocitos y las plaquetas.
8. Colocar en otro tubo Fisher el sobrenadante. Centrifugar 1 min. a velocidad 1.5 (1000 g). Debido a las diferencias de densidad entre los linfocitos y las plaquetas, los primeros se sedimentan quedando en el fondo del tubo y las plaquetas resuspendidas en el sobrenadante.
9. Quitar el sobrenadante (plaquetas) y regresarlo al tubo anterior (en caso de perder los linfocitos, de este tubo se pueden obtener más).

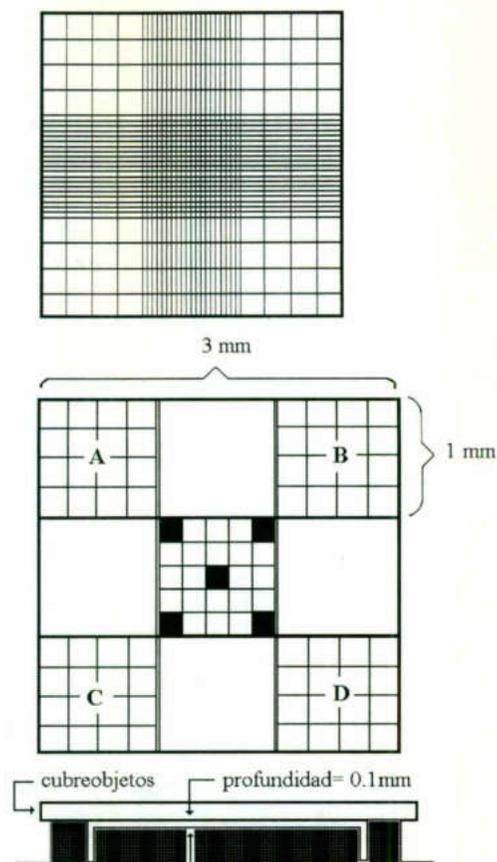
NOTA: En caso de que el botón de linfocitos obtenido, esté contaminado con eritrocitos se realizan los siguientes pasos: se resuspende el botón de linfocitos en 1 ml aprox. de AKC, incubar durante 5 min. a 37 °C, centrifugar 2 min. a velocidad 4 (2500 g), desechar el sobrenadante, agregar 1 ml aprox. de PBS, resuspender el botón de linfocitos, centrifugar 2 min. a velocidad 4, y por último desechar el sobrenadante.

10. Resuspender el botón de linfocitos en medio RPMI o McCoy, la cantidad de medio es proporcional al tamaño del botón.

NOTA: Si se va tipificar HLA-A, B, C y D, entonces separar 200 µl de la suspensión celular (este volumen es suficiente para sembrar las placas de HLA ABC).

11. Contar en el hematocitómetro los cuadros que señala la figura 5.3.³⁷ Ajustar la concentración celular a 2000 cél/mm³.

Realizar los cálculos de ajuste celular de la siguiente manera: si por ejemplo se contaron 60 células en los 5 cuadros negros (cada cuadro negro consta de 16 cuadritos) que se leyeron, se convierten a cél/mm³:



Volumen total de la cámara= lado x lado x profundidad
 Volumen total de la cámara= 3mm x 3mm x 0.1 mm= 0.9 mm³
 Volumen del cuadro central= 1mm x 1mm x 0.1 mm= 0.1 mm³
 Volumen de la quinta parte (1/5) del cuadro central= 0.1 mm³/ 5=0.02 mm³

Fig. 5.3. Cámara de Neubauer o hematocitómetro.

$$60 \text{ cél.} - 0.02 \text{ mm}^3$$

$$X - 1 \text{ mm}^3$$

$$X = 3000 \text{ cél/mm}^3$$



Con la fórmula $V_1C_1 = V_2C_2$, ajustar a 2000 cél/mm^3 . Si utilizamos $1000 \mu\text{l}$ de medio de cultivo para resuspender el botón de linfocitos, tenemos entonces que;

DATOS:	FÓRMULA:	SUSTITUCIÓN:
$V_1 = X$	$V_1C_1 = V_2C_2$	$V_1 = \frac{(1000 \mu\text{l})(2000 \text{ cél/mm}^3)}{3000 \text{ cél/mm}^3}$
$C_1 = 3000 \text{ cél/mm}^3$	$V_1 = V_2C_2/C_1$	
$V_2 = 1000 \mu\text{l}$		$V_1 = 666.67 \mu\text{l}$
$C_2 = 2000 \text{ cél/mm}^3$		

Entonces se agregan $666.67 \mu\text{l}$ de la suspensión celular, se colocan en otro tubo Fisher y se llevan a un volumen final de $1000 \mu\text{l}$ con medio de cultivo. Así, se tienen $1000 \mu\text{l}$ de una suspensión celular con una concentración de $2000 \text{ cél}/\mu\text{l}$.

12. Proceder a sembrar las placas HLA ABC con $1 \mu\text{l}$ de la suspensión celular e incubar durante 30 a 60 min (el tiempo es opcional) a temperatura ambiente. Después continuar con el paso 21 de esta técnica. Para tipificar HLA DR continuar con el paso siguiente.
13. Al resto de la suspensión de linfocitos centrifugar 2 min. a velocidad 4, desechar el medio de cultivo y agregar 0.8 ml del reactivo Linpho-kwik I.
14. Incubar durante 60 min. a 37°C .
15. Después de la incubación agregar una capa de PBS de $200 \mu\text{l}$, para formar una gradiente de dos fases y centrifugar 2 min. a velocidad 5.
16. En la interfase se observa un anillo de células muertas. Se descarta el sobrenadante junto con la interfase dejando sólo el botón de linfocitos en el fondo.
17. Agregar 0.5 ml del reactivo de Linpho-kwik II y centrifugar 2 min. a velocidad 5 (3500 g).
18. Descartar el sobrenadante, agregar 1 ml aprox. de PBS, resuspender y centrifugar 2 min. a velocidad 4.
19. Descartar el sobrenadante y resuspender a los linfocitos B aislados en $200 \mu\text{l}$ medio de cultivo - la cantidad de medio varía según el tamaño del botón -. Ajustar la concentración a 2000 cél/mm^3 .
20. Sembrar $1 \mu\text{l}$ de la suspensión en cada pocillo de la placa para DR y DQ e incubar durante 60 min. a temperatura ambiente.
21. Agregar $5 \mu\text{l}$ de complemento en cada pocillo e incubar una hora para las placas de ABC y 2 horas para las de DR y DQ.



22. Agregar de 2-5 μ l de eosina Y al 5% a cada pocillo. Incubar durante 3 min. a temperatura ambiente.
23. Agregar 5 μ l de formalina al 40% a cada pocillo, con la finalidad de fijar.
24. Dejar reposar durante 20 min. o toda la noche en cámara húmeda en el refrigerador de 4 °C.
25. Leer en un microscopio invertido con objetivo de 10X.
26. Interpretar resultados siguiendo los criterios que a continuación se exponen:³⁷

<i>Calificación</i>	<i>% de células lisadas</i>	<i>Interpretación</i>
1	0-10	Negativa
2	11-20	Dudosa
4	21-50	Débilmente positiva
6	51-80	Positiva
8	81-100	Fuertemente positiva

PRUEBA CRUZADA

PRINCIPIO:

El principio es el mismo que el de la tipificación de HLA. La variación del método consiste en el antisuero contenido en las placas, en su lugar se coloca el suero del receptor; y la suspensión celular sembrada es del donador. El objetivo de esta prueba es detectar la presencia de anticuerpos citotóxicos en el receptor contra las células del donador.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 20 ml de sangre con anticoagulante (EDTA o heparina) del o de los potenciales donadores.
- 5 ml de suero del receptor



MATERIAL Y EQUIPO:

Además del material y equipo utilizados en la prueba de tipificación se agregan a la lista:

- Placas vacías (el número de pozos es irrelevante)
- Aparato para aceitar cada pozo de la placa, o una pipeta Hamilton de 1 μ l para colocar el aceite mineral
- Tubos de ensayo de 13X100 mm

REACTIVOS:

Además de los reactivos utilizados en la técnica anterior, se agregan a la lista:

- Solución de ditiotreitól (DTT: agente químico reductor, que rompe puentes disulfuro)
- Aceite mineral
- Suero control positivo (comercial)
- Suero control negativo

PROCEDIMIENTO:

1. Extraer 20 ml de sangre del o de los potenciales donadores, anticoagularla y colocarla en un tubo Falcon. Se sigue todo el procedimiento de la técnica anterior, hasta el paso donde se ajusta la suspensión celular para los HLA ABC (paso 11).
2. Se extraen 5 ml de sangre del receptor, se colocan en un tubo de ensayo, se deja reposar, se centrifuga a 1500 r.p.m. y se extrae el suero.
3. En una placa vacía colocar 1 μ l de aceite mineral en las columnas a utilizarse dependiendo del número de los potenciales donadores, además se aceitan las columnas del control positivo y del control negativo.
4. Colocar 1 μ l del suero del receptor en las columnas de la A a la E, y 1 μ l de la suspensión celular de cada donador e incubar durante 60 min. a 37 °C, para que se efectúe la reacción Ag-Ac.
5. Añadir 5 μ l de complemento e incubar 60 min. a temperatura ambiente.
6. Agregar 2 μ l de eosina Y al 5% y dejar reposar de 2 a 5 min. a temperatura ambiente.
7. Adicionar 1 μ l de formalina al 40%.
8. Reposar 20 min. Leer al microscopio invertido con el objetivo de 10X.
9. Para la interpretación se toman en cuenta los mismos criterios que para la técnica anterior.



En esta prueba es importante definir claramente la negatividad o positividad. Un resultado de 1 y 2 se toman como negativos, 6 y 8 como positivos, y 4 como un resultado dudoso, y para este caso se lleva a cabo la siguiente metodología:

10. Para eliminar la presencia de anticuerpos inespecíficos IgM usar DTT. Colocar en un tubo de ensayo 90 μ l del suero del receptor y 10 μ l de una solución de DDT 50 mM (quedando una concentración final de 5 mM), mezclar bien e incubar a 37 °C en baño durante 45 min. y sembrar el suero como en el paso 4.⁵⁶



VI. COMENTARIOS

Las principales causas que conducen al trasplante renal son: la glomerulonefritis membranoproliferativa, la pielonefritis crónica, la diabetes mellitus y la hipertensión.

Es indispensable someter al donador a varios tipos de exámenes médicos y de laboratorio, y hacer una selección adecuada de éste. Para el caso de donador cadavérico, también pasa por criterios de exclusión, y mientras es elegido para transplantarlo, el injerto se conserva por el método de preservación ideal dependiendo de las características que presente tal riñón y del tiempo que durará almacenado.

La preparación del paciente se lleva a cabo meses antes, desde que es seleccionado en la lista de espera hasta el momento de la cirugía. Esta preparación abarca aspectos sociales, psicológicos y médicos.

En el Hospital General de México se tiene la regla de que un mes como mínimo antes del trasplante, el paciente no sea transfundido, pues de lo contrario, se deberá realizar nuevamente la prueba cruzada para detectar la posible presencia de anticuerpos citotóxicos; lo que trae como consecuencia el retraso de la ejecución del trasplante. Las transfusiones sanguíneas en pacientes candidatos a recibir un riñón se hacen en varios centros de trasplante, con la finalidad de inducir tolerancia en su sistema inmune; aunque estos pacientes peligran de ser sensibilizados a moléculas de HLA. Debido a esto, existe controversia en el hecho de llevar a cabo transfusiones sanguíneas preoperatorias en el potencial receptor de un riñón.

Considero que debieran de ampliarse los programas de trasplante renal a todos los Estados de la República Mexicana, pues cada vez es mayor el número de pacientes que requieren un tratamiento como éste.

La persona decidida a ser donador, deberá mantener su palabra; pues ha ocurrido una falta de ésta, poco tiempo antes de que se realice el trasplante.

Sería muy conveniente que el gobierno subsidiara a enfermos de bajos recursos que necesitan trasplante renal; pues existen en nuestro medio muchos pacientes con bajos recursos económicos, los cuales se descartan debido a la incapacidad económica de adquirir los fármacos inmunosupresores necesarios de por vida.



La terapia inmunosupresora empieza en la etapa preoperatoria, y, dependiendo del tipo de ésta, puede iniciar de 24 horas a 2 días antes del trasplante, si se administra ciclosporina A y azatioprina respectivamente; continúa en el transoperatorio (cuando se aplica suero antinfocítico u OKT3), y se sigue administrando de por vida o durante el tiempo de supervivencia del injerto.

Del 10 al 15% de los riñones transplantados son rechazados durante el primer año, aún con la administración de agentes inmunosupresores.

Los avances logrados en el área de la inmunosupresión clínica, permitirán contar con mejores técnicas inmunosupresoras que modifiquen la respuesta inmunológica, y de esta manera se aumentará la supervivencia del injerto. La era del trasplante renal como tratamiento de reemplazo ya es un hecho, y cada día es luz de esperanza para muchos enfermos renales en etapa terminal.



VII. CONCLUSIONES

- El trasplante renal es un tratamiento indispensable para aumentar la supervivencia de pacientes con un promedio de vida mayor a 5 años que padezcan alguna enfermedad renal en etapa terminal.
- La preparación del paciente a ser transplantado es crucial para mejorar la supervivencia del injerto.
- El nivel socioeconómico y el apoyo psicológico del receptor, deben ser evaluados para considerarse candidato a trasplante.
- La supervivencia del injerto aumenta considerablemente cuando existe mayor compatibilidad entre las moléculas del sistema HLA.
- El tratamiento y la profilaxis inmunosupresora son fundamentales para reducir el riesgo de rechazo agudo.
- Las pruebas de compatibilidad en que se fundamenta la decisión para realizar o no el trasplante son: compatibilidad del sistema ABO, tipificación de las moléculas de HLA y pruebas cruzadas (compatibilidad donador-receptor de las moléculas de HLA).



VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Morris PJ. Kidney transplantation. En: Lachman PJ, Peters K. *Clinical aspects of immunology*. 5a. edición, Ed. Blackwell Scientific Publications, USA, 1993; Vol. 3, pp.1737-50.
2. Carpenter CB, Lazarus JM. La diálisis y el trasplante en el tratamiento de la insuficiencia renal. En: Wilson JD, Braunwald, Isselbacher KJ. *Harrison, Principios de medicina interna*. 12a. edición, Ed. Interamericana-MacGraw-Hill, México, 1991; pp. 1341-8.
3. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. The major histocompatibility complex. En: *Cellular and molecular immunology*. 2a. edición, Ed. Interamericana-McGraw-Hill, USA, 1994; pp. 96-113.
4. Albrecht K, Zühlke M, Kruschke A, and Eigler FW. Impact of preservation. *Transplantation Proceeding*. 1993; 25:2561-62.
5. Hadley AG, Anderson BC, and Mohanakumar T. Selective loss of functional antidonor cytotoxic T cell precursors following donor-specific blood transfusions in long term renal allograft recipients. *Transplantation*. 1992; 54:333-6
6. Chapel H. Trasplante. En: *Inmunología clínica*. 1a. edición, Ed. El Manual Moderno, México, 1992; pp. 160-1.
7. Keown PA, and Stiller CR. Trasplante de riñón. *Surgical Clinics of North America*. 1986; 5:535-43.
8. Brostoff J, Scadding KG, Male D, Roitt MI. Introduction to immune responses. En: *Clinical Immunology*. 1a. edición, Ed. Gower Medical Publishing, USA, 1991; pp. 1.1-1.4.
9. Giblett ER. Red cell, platelet, and white cell antigens. En: Lee RG, Bithell TC. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 9a edición, Ed. Lea y Febiger, USA, 1993; Vol. 1, pp. 660-6.
10. Gutiérrez-Carreño R. Trasplante de riñón: 27 años de evolución. *Cirujano General*. 1991; 13:35-7.



11. Bluestone JA, Lechler RI, et. al. Transplantation. *Current Opinion in Immunology*. 1995; 7:617-619.
12. Diliz-Pérez H. Symposium: Trasplante de órganos en México (Introducción). *Cirujano General*. 1994; 16:216-7.
13. Espinosa-Flores A. Historia de los trasplantes en México. *Cirujano General*. 1990; 12:106-9.
14. Dib KA, Bordes AJ, Larios, RM, Torres PE, Arce de la Vega LI, y Wolpert BE. Registro Nacional de Trasplantes: Trasplante de órganos en México. *Cirujano General*. 1994; 16:218-21.
15. Browne JB. Trasplante renal. En: *Clínicas médicas de Norteamérica*. 1a. edición, Ed. Interamericana, España, 1992; Vol. 5 pp. 1112-7, 1152-57, 1230-33.
16. Juárez A, Camarena A, Lazcano D, y col. Inmunología de trasplantes. *Cirujano General*. 1994; 16:222-7.
17. Rojas HG, Diliz PH, y Dib KA. Detección de potenciales donadores cadavéricos y procuración de órganos para trasplante. *Cirujano General*. 1994; 16:263-7.
18. Gracida JC, y Melchor OJ. El rechazo en trasplante renal. *Cirujano General*. 1994; 16:229-33.
19. Diliz HP, Bordes JA, Odor A, y col. Programa nacional de trasplantes de órganos cadavéricos. *Cirujano General*. 1988; 10:3-6.
20. Brostoff J, Male D. Introduction. En: *Clinical Immunology: An Illustrated Outline*. 1a. edición, Ed. Times Mirror International Publishers, España, 1994; pp. 19-27.
21. Talmage DW. Historia de la inmunología. En: Stites PD, Terr IA. *Inmunología básica y clínica*. 7a. edición, Ed. El Manual Moderno, México, 1991; pp. 1-5.
22. Rodríguez-Torres A. El sistema inmunitario: antígenos. En: Pumarola A, Rodríguez T. *Microbiología y parasitología médicas*. 2a. edición, De. Masson-Salvat, España, 1987; p. 205.
23. Bellanti JA, Kadlec JV. Inmunología general. En: Bellanti JA. *Inmunología*. 3a. edición, Ed. Interamericana, México, 1986; p. 20.
24. Roitt MI, Brostoff J, Male KD. *Inmunología*. 2a. edición, Ed. Salvat, España, 1991; pp. 1.1, 3.1, 4.1.



25. Rojas W. *Inmunología*. 4a. edición, Ed. Colina, Colombia, 1978; pp. 1-4.
26. Ortiz-Ortiz L. *Inmunología*. 1a. edición, Ed. Interamericana, México, 1987; p. 8.
27. Vincenti R, Weber P, Forsell S, et al. Hepatitis C virus in cadaver donors: prevalence and risk of transmission to transplant recipients. *Transplantation proceedings*. 1991; 5:2651-2.
28. Zong-Li H, Zhi-Lian M, Jing-Qin L, and Hai-Kuan Z. Preservation of cadaver kidney allografts. *Transplantation proceedings*. 1992; 24:1351-2.
29. Santiago-Delpin E, Ruiz-Speare J. *Transplante de órganos*. 1a. edición, Ed. Salvat, México, 1987; pp. 82-8, 167-75, 254-66, 319-27, 333-56, 390-400, 471.
30. Briggs JD. The recipient of a renal transplant. En: Morris PJ. *Kidney transplantation*. 2a. edición, Ed. Academic-Press, Londres, 1984; p.59.
31. Vianello A, Mastro Simone S, Calconi G, et. al. Influence of donor age on cadaver kidney graft function and survival: univariate and multivariate analyses. *Nephron*. 1993; 65: 541-8.
32. Beilman GJ, Shield CF, Hughes JD, et. al. The effects of intraoperative administration of OKT3 during renal transplantation. *Transplantation*. 1993; 55: 490-3.
33. Alexander JW, Babcock GF, First BR, et. al. The induction of immunologic hyporesponsiveness by preoperative donor-specific transfusions and ciclosporine in human cadaveric transplants: a preliminary trial. *Transplantation*. 1992; 53: 423-7.
34. Pirsch JD, D'alessandro AM, Sollinger HW, et. al. The effect of donor age, recipient age, and HLA match on immunologic graft survival in cadaver renal transplant recipients. *Transplantation*. 1992; 53: 55-9.
35. Goodman-Gilman RT, Nies A, Taylor P. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8a. edición, Ed. Médica Panamericana México, 1991; pp. 1173-94, 1223-32.
36. Charpenter BM, Hiesse C, Kriaa F, et. al. How to deal with the hyperimmunized potencial recipients. *Kidney-Int-Suppl*. 1992; 38: 176-81.
37. *HLA technical manual*. Editado por One Lambda. 1990; pp. 4-9, 40-5, 57.
38. Simmons LR, Ildstad TS, Smith RC, Reemtsma K, and Najarian SJ. Transplantation. En: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC. *Principles of surgery*. 6a. edición, Ed. McGraw-Hill, 1994; Vol. 1, p. 437.



39. Granados J, Yamamoto JK, Zúñiga J, Ramírez SE, y Salgado N. Las bases genéticas de las enfermedades reumáticas. *Revista mexicana de reumatología*. 1996; 11: 72-8.
40. Forsberg B, Ekberg H and Johnson U. Influence of recipient's HLA type on the outcome of renal transplantation. *Transplantation proceedings*. 1992; 24:2463-5.
41. Alamartine E, Berthoux F, Acquart S, and Lepetit JC. Influence of HLA antigens of renal transplant recipients on graft survival. *Transplantation proceedings*. 1992; 24:2461-2.
42. Moreso F, Gallen M, García-Osuna R, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in renal transplantation. *Transplantation proceedings*. 1995; 27: 2226-8.
43. Mora M, Wilms H and Kirste G. Significance of bacterial contamination of cadaver donor renal allografts before transplantation. *Transplantation proceedings*. 1991; 23: 2648.
44. Contreras- Rodríguez JL, Bordes-Aznar J, Alberu J, Mancilla E, and Peña JC. Kidney transplantation in systemic lupus erythematosus: experience from a reference center in Mexico. *Transplantation Proceedings*. 1991; 24:1798-9.
45. Kumar MSA, Stephan J, Chui RP, et al. Donor age and graft outcome in cadaver renal transplantation. *Transplantation proceedings*. 1993; 25:3097-8.
46. Rowinski W, Pacholczyk A, Chmura S, et al. Influence of positive cultures in donor and preservation medium on development of infection in cadaver kidney transplant recipients: beneficial effects of antibiotic coverage at the time of nephrectomy. *Trasplantation proceedings*. 1991; 23:265-6.
47. Schilling MK, Den Butter G, Saunder S, Lindell FO, Belzer FO, and Southard JH. Cold membrane stabilizing effects of glycine during kidney storage and reperfusion. *Transplantation proceedings*. 1991; 23: 2387-9.
48. Bordes-Aznar J, Peña JC, Herrera-Acosta J, et al. Twenty-four-year experience in kidney transplantation at one single institution in Mexico city. *Transplantation proceedings*. 1992; 24: 1794-5.
49. Glotz D, Jean-Philippe H, Sansonetti N, et al. Supression of HLA-specific alloantibodies by high-dose intravenous immunoglobulins (IVIg). *Transplantation*. 1993; 56:335-7.
50. Cecka JM, Terasaki PI. *Clinical Transplants*. Ed. Tissue Typing Laboratory, Editor PI Terasaki, UCLA, Los Angeles, USA, 1990; p 1.



51. Delmonico FL, Fuller TC, Cosimi AB. *Clinical Transplants*. Ed. Tissue Typing Laboratory, Editor PI Terasaki, UCLA, Los Angeles, USA, 1990; p. 247.
52. Yamamoto-Furusho JK, Granados J. El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y las enfermedades autoinmunes. *Gaceta Médica de México*. 1996; enviado a publicación.
53. Schilling M, Saunder A, Southard JH, and Belzer FO. Long-term renal preservation and prevention of acute tubular necrosis by inhibition of arachidonate metabolism. *Transplantation proceedings*. 1993; 25: 2534-5.
54. Schilling M, Saunder A, Ametani M, Southard JH, and Belzer FO. Prolonged kidney preservation by inhibition of arachidonic acid metabolism. *Transplantation proceedings*. 1993; 25: 1629-30.
55. Clayberger C, and Krensky AM. Immunosuppressive peptides corresponding to MHC class I sequences. *Current Opinion in Immunology*. 1995; 7: 644-8.
56. Investigación de campo: Laboratorio de Genética del Hospital General de México. México, D.F.



APÉNDICE

REACTIVOS UTILIZADOS EN LA TIPIFICACIÓN DE HLA CLASE I Y II, Y EN LA PRUEBA CRUZADA

Ficoll-Radialar

Ficoll tipo 400 (Sigma)	45.0 g
Radialar (solución I.V. al 60%)	150.0 ml
Agua destilada	630.0 ml
Ajustar densidad a 1.077 g/ml	

Disolver el Ficoll en el agua destilada sobre un agitador magnético (apartar aprox. 100 ml de agua para el ajuste de densidad). Agregar la solución de radialar, mezclar y ajustar densidad (con un densitómetro) utilizando el resto del agua destilada.

Formalina al 40%

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.1725 g
Na_2HPO_4	0.30 g
Formol al 40%	100.0 ml
Ajustar el pH=7.4	

NOTA: Las sales se pueden omitir.

AKC

NH_4Cl	8.29 g
K_2CO_3	1.34 g
Agua destilada	1.0 L

**PBS**

NaCl	7.66 g
Na ₂ HPO ₄	3.80 g
KH ₂ PO ₄	0.06 g
Ajustar el pH a 7.4	

Eosina Y al 5%

Eosina Y	5.0 g
Agua destilada	100.0 ml

Calentar en una placa térmica hasta su disolución. Filtrar con papel filtro. Colocar en frasco ámbar y conservar a temperatura ambiente.

Suero control negativo

Medio de cultivo RPMI o McCoy	9 ml
Suero de sujeto con grupo sanguíneo AB	1 ml

Ditiotreitól (DDT)

DDT	1.54 g
PBS (pH=7.4)	10.0 ml

Disolver el DDT en el PBS, mezclar y tomar 1 ml, colocarlo en un tubo de ensayo y agregar 19 ml de PBS.



Tabla de especificidades de moléculas de HLA clase I y II del MHC

<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
A*0101	A1	A*2601	A26(10)	B*0701	B7
A*0201	A2	A*2901	A29(19)	B*0702	B7
A*0202	A2	A*2902	A29(19)	B*0703	B7
A*0203	A2	A*3001	A30(19)	B*0801	B8
A*0204	A2	A*3002	A30(19)	B*1301	B13
A*0205	A2	A*31011	A31(19)	B*1302	B13
A*0206	A2	A*31012	A31(19)	B*1401	B14
A*0207	A2	A*3201	A32(19)	B*1402	B14
A*0208	A2	A*3301	A33(19)	B*1501	B62(15)
A*0209	A2	A*3401	A34(10)	B*1502	B75(15)
A*0210	A2	A*3402	A34(10)	B*1503	B72(15)
A*0211	A2	A*3601	A36	B*1504	B62(15)
A*0212	A2	A*4301	A43	B*1801	B18
A*0301	A3	A*6601	A66(10)	B*2701	B27
A*0302	A3	A*6602	A66(10)	B*2702	B27
A*1101	A11	A*6801	A68(28)	B*2703	B27
A*1102	A11	A*6802	A68(28)	B*2704	B27
A*2301	A23(9)	A*6901	A69(28)	B*2705	B27
A*2401	A24(9)	A*7401	A74(19)	B*2706	B27
A*2402	A24(9)			B*2707	B27



<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
B*3503	B35	B*5001	B50(21)	Cw*0101	Cw1
B*3504	B35	B*5101	B51(5)	Cw*0102	Cw1
B*3505	B35	B*5102	B51(5)	Cw*0201	Cw2
B*3506	B35	B*5103	B51(5)	Cw*02021	Cw2
B*3701	B37	B*5201	B52(5)	Cw*02022	Cw2
B*3801	B38	B*5301	B53	Cw*0301	Cw3
B*3901	B39(16)	B*5401	B54(22)	Cw*0302	Cw3
B*3902	B39(16)	B*5501	B55(22)	Cw*0401	Cw4
B*4001	B60(40)	B*5502	B55(22)	Cw*0501	Cw5
B*4002	B40	B*5601	B56(22)	Cw*0601	Cw6
B*4003	B40	B*5602	B56(22)	Cw*0701	Cw7
B*4004	B40	B*5701	B57(17)	Cw*0801	Cw8
B*4005	B40	B*5702	B57(17)	Cw*0802	Cw8
B*4101	B41	B*5801	B58(17)	Cw*1201	Cw12
B*4201	B42	B*7801	B78	Cw*1202	Cw12
B*4401	B44(12)	B*7901	B79	Cw*1301	Cw13
B*4402	B44(12)			Cw*1302	Cw14
B*4403	B44(12)				
B*4501	B45(12)			E*0101	E1
B*4601	B46			E*0102	E1
B*4701	B47			E*0103	E1
B*4801	B48			E*0104	E1
B*4901	B49(21)				



<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
DRA*0101	...	DRB1*0410	DR4	DRB1*1406	DR14(6)
DRA*0102	...	DRB1*0411	DR4	DRB1*1407	DR14(6)
DRB1*0101	DR1	DRB1*0412	DR4	DRB1*1407	DR14(6)
DRB1*0102	DR1	DRB1*11011	DR11(5)	DRB1*1408	DR14(6)
DRB1*0103	DR0103	DRB1*11012	DR11(5)	DRB1*1409	DR14(6)
DRB1*1501	DR15(2)	DRB1*1102	DR11(5)	DRB1*1409	DR14(6)
DRB1*1502	DR15(2)	DRB*1103	DR11(5)	DRB1*1410	...
DRB1*1503	DR15(2)	DRB1*11041	DR11(5)	DRB1*0701	DR7
DRB1*1601	DR16(2)	DRB1*11042	DR11(5)	DRB1*0702	DR7
DRB1*1602	DR16(2)	DRB1*1105	DR11(5)	DRB1*0801	DR8
DRB1*0301	DR17(3)	DRB1*1201	DR12(5)	DRB1*08021	DR8
DRB1*0302	DR18(3)	DRB1*1202	DR12(5)	DRB1*08022	DR8
DRB1*0303	DR18(3)	DRB1*1301	DR13(6)	DRB1*08031	DR8
DRB1*0401	DR4	DRB1*1302	DR13(6)	DRB1*08032	DR8
DRB1*0402	DR4	DRB1*1303	DR13(6)	DRB1*0804	DR8
DRB1*0403	DR4	DRB1*1304	DR13(6)	DRB1*0805	DR8
DRB1*0404	DR4	DRB1*1305	DR13(6)	DRB1*09011	DR9
DRB1*0405	DR4	DRB1*1306	DR13(6)	DRB1*09012	DR9
DRB1*0406	DR4	DRB1*1401	DR14(6)	DRB1*1001	DR10
DRB1*0407	DR4	DRB1*1402	DR14(6)		
DRB1*0407	DR4	DRB1*1403	DR14(6)		
DRB1*0408	DR4	DRB1*1404	DR14(6)		
DRB1*0409	DR4	DRB1*1405	DR14(6)		



<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
DRB3*0101	DR52	DRB5*0101	DR51	DRB6*0101	...
DRB3*0201	DR52	DRB5*0102	DR51	DRB6*0201	...
DRB3*0202	DR52	DRB5*0201	DR51	DRB6*0202	...
DRB3*0301	DR52	DRB5*0202	DR51		
DRB4*0101	DR53				



<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
DQA1*0101	...	DQB1*0602	DQ6(1)	DPA1*0101	...
DQA1*0102	...	DQB1*0603	DQ6(1)	DPA1*0102	...
DQA1*0103	...	DQB1*0604	DQ6(1)	DPA1*0103	...
DQA1*0104	...	DQB1*0605	DQ6(1)	DPA1*0201	...
DQA1*0201	...	DQB1*0606	...	DPA1*02021	...
DQA1*03011	...	DQB1*0201	DQ2	DPA1*02022	...
DQA1*03011	...	DQB1*0301	DQ7(3)	DPA1*0301	...
DQA1*03012	...	DQB1*0302	DQ8(3)	DPA1*0401	...
DQA1*0302	...	DQB1*03031	DQ9(3)		
DQA1*0401	...	DQB1*03032	DQ9(3)	DPB1*0101	DPw1
DQA1*0501	...	DQB1*0304	DQ7(3)	DPB1*0201	DPw2
DQA1*05011	...	DQB1*0401	DQ4	DPB1*02011	DPw2
DQA1*05012	...	DQB1*0402	DQ4	DPB1*02012	DPw2
DQA1*05013	...			DPB1*0202	DPw2
DQA1*0601	...			DPB1*0301	DPw3
				DPB1*0401	DPw4
DQB1*0501	DQ5(1)			DPB1*0402	DPw4
DQB1*0502	DQ5(1)			DPB1*0501	DPw5
DQB1*05031	DQ5(1)			DPB1*0601	DPw6
DQB1*05032	DQ5(1)			DPB1*0801	...
DQB1*0504	...			DPB1*0901	...
DQB1*0601	DQ6(1)			DPB1*1001	...



<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>	<i>ALELO</i>	<i>ESPECIFICIDAD</i>
DPB1*1101	...	DPB1*3501	...
DPB1*1301	...	DPB1*3601	...
DPB1*1401	...		
DPB1*1501	...		
DPB1*1601	...		
DPB1*1701	...		
DPB1*1801	...		
DPB1*1901	...		
DPB1*2001	...		
DPB1*2101	...		
DPB1*2201	...		
DPB1*2301	...		
DPB1*2401	...		
DPB1*2501	...		
DPB1*2601	...		
DPB1*2701	...		
DPB1*2801	...		
DPB1*2901	...		
DPB1*3001	...		
DPB1*3101	...		
DPB1*3201	...		
DPB1*3301	...		
DPB1*3401	...		