

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO “DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA



**“INMUNOTIPIFICACIÓN DE LINFOCITOS EN BIOPSIAS RENALES POR
RECHAZO DE TRASPLANTE”**

PRESENTA

DRA. DAYNNA VIANNEY SALAS VALDEZ

**TESIS COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

DIRECTOR: DR. ÁLVARO BARBOSA QUINTANA
CO-DIRECTOR: DR. MED. RAQUEL GARZA GUAJARDO

CD. MONTERREY, N.L. MÉXICO

FEBRERO 2021

**INMUNOTIPIFICACIÓN DE LINFOCITOS EN BIOPSIAS RENALES POR
RECHAZO DE TRASPLANTE**

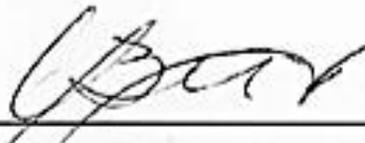
APROBACIÓN DE LA TESIS:



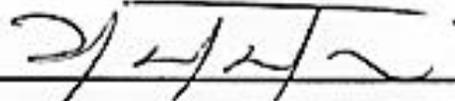
**Dr. Álvaro Barbosa Quintana
DIRECTOR DE TESIS**



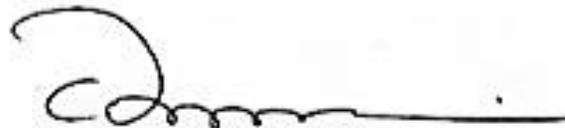
**Dr. Med. Raquel Garza Guajardo
CO-DIRECTOR DE TESIS**



**Dr. Med. Oralia Barboza Quintana
JEFE DEL SERVICIO**



**Dra. Natalia Vilches Cisneros
COORDINADOR DE ENSEÑANZA**



**Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

AGRADECIMIENTOS

A la Dr. Med. **Oralia Barboza Quintana**, quien desde el primer día me brindo todo su apoyo y consejos para lograr ser una patóloga de excelencia, y por ser inspiración y modelo de mujer profesionista.

Al Dr. **Álvaro Barbosa Quintana**, por su tiempo y dedicación para que este proyecto fuera posible.

A la Dr. Med. **Raquel Garza Guajardo**, por siempre estar disponible y por todas y cada una de sus observaciones y enseñanzas.

A **todos mis maestros**, por siempre tener las puertas abiertas para aclarar cualquier duda y por todo el tiempo y esfuerzo que dedican a formar futuros patólogos.

A mi amiga **Gaby**, por ser incondicional y siempre estar para mí.

A mis **compañeros residentes**, por su esfuerzo y dedicación.

A **todo el personal del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología**, porque con su profesionalismo hacen posible brindar un servicio de excelencia a nuestros pacientes.

A la **Universidad Autónoma de Nuevo León**, por ser mi alma mater y abrirme las puertas a lo largo de mi formación universitaria, motivo del cual me siento sumamente orgullosa.

DEDICATORIAS

A mis padres, **Bety y Rogelio**, quienes son el mejor ejemplo de que trabajando con honestidad y dedicación se puede lograr cualquier objetivo, por todo el apoyo que me han brindado para cumplir mis metas y por ser mi mayor aliento para seguir superándome cada día. Me hacen sentir felizmente orgullosa de ser su hija.

A mi esposo **Uriel**, quien con su amor y paciencia ha estado para mí siempre y ha sido la primera persona en impulsarme a realizar mis sueños.

A mis hermanos, **Rogelio y Oswaldo**, que han sido mis compañeros y amigos toda la vida, y en quienes siempre he encontrado palabras de aliento y motivación.

A mi **familia**, que siempre me ha hecho sentir querida y feliz de ser parte de ella.

A mis **amigos**, que a pesar del tiempo y la distancia siguen estando siempre.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I

1. RESUMEN	1
------------------	---

CAPÍTULO II

2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 SISTEMA INMUNITARIO	3
2.2 TRASPLANTE RENAL	5
2.3 BIOPSIA RENAL	6
2.4 ANTECEDENTES	9
2.5 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE BANFF	13

CAPÍTULO III

3. JUSTIFICACIÓN	25
------------------------	----

CAPÍTULO IV

4. OBJETIVOS	26
4.1 OBJETIVO GENERAL	26
4.2 OBJETIVO SECUNDARIO	26

CAPÍTULO V

5. HIPÓTESIS	27
5.1 HIPÓTESIS	27
5.2 HIPÓTESIS NULA	27

CAPÍTULO VI

6. MATERIAL Y MÉTODOS	28
6.1 DISEÑO METODOLÓGICO DE ESTUDIO	28
6.2 TIPO DE ESTUDIO	28
6.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO	28
6.4 CALCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA	29
6.5 DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO	30
6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31

CAPÍTULO VII

7. RESULTADOS	36
---------------------	----

CAPÍTULO VIII

8. DISCUSIÓN	53
--------------------	----

CAPÍTULO IX

9. CONCLUSIÓN	54
---------------------	----

CAPÍTULO X

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
--------------------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Esquema de estandarización de reporte de Banff	19
TABLA 2. Puntuaciones de Banff individuales utilizadas en la clasificación de CMA y RMCT agudos y crónico activos	20
TABLA 3. Anticuerpos utilizados para la realización de inmunohistoquímica a los histoarreglos	31
TABLA 4. Conteo de linfocitos de cada caso según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal	39
TABLA 5. Promedio de cantidad de linfocitos según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal en casos de rechazo celular	42
TABLA 6. Promedio de cantidad de linfocitos según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal en casos de rechazo humoral	42
TABLA 7. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD20 por localización	43
TABLA 8. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD4 por localización	43
TABLA 9. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD3 por localización	44

TABLA 10. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD8 por localización	44
TABLA 11. Cantidad y porcentaje del promedio de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo celular	45
TABLA 12. Cantidad y porcentaje del promedio de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral	45
TABLA 13. Cantidad del total de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral y celular	46
TABLA 14. Porcentaje del total de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral y celular	46

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Histoarreglos e inmunohistoquímica para CD20, CD4, CD3 y CD8 realizada a cada uno de ellos	32
FIGURA 2. Ejemplo de un histoarreglo y de cada uno de los marcadores de inmunohistoquímica realizados	33
FIGURA 3. Ejemplo de conteo de linfocitos y cantidad de vasos sanguíneos en un campo de alto poder (40x)	33
FIGURA 4. Ejemplo de conteo de linfocitos y cantidad de túbulos en un campo de alto poder (40x)	34
FIGURA 5. Ejemplo de conteo de linfocitos en un glomérulo, incluyendo los presentes en capilares glomerulares y cápsula de Bowman	35

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1. Cantidad de células por inmunofenotipo en ambos tipos de rechazo (celular y humoral)	47
GRÁFICA 2. Cantidad de células por inmunofenotipo en rechazo humoral	48
GRÁFICA 3. Cantidad de células por inmunofenotipo comparadas en rechazo celular y humoral	49
GRÁFICA 4. Cantidad de células según inmunofenotipo por localización en rechazo celular y humoral	50
GRÁFICA 5. Porcentaje de células según inmunofenotipo en rechazo celular y humoral	51
GRÁFICA 6. Porcentaje de células según localización en ambos tipos de rechazo (celular y humoral)	52

LISTA DE ABREVIATURAS

cg: glomerulopatía crónica

ci: fibrosis intersticial en corteza

CMA: Cambios mediados por anticuerpos

ct: atrofia tubular en corteza

cv: fibrosis arterial intimal

g: glomerulitis

i: inflamación

IF: Inmunofluorescencia directa

IHQ: Inmunohistoquímica

i-IFTA: inflamación en corteza cicatrizal

ME: Microscopía electrónica

ML: Microscopía de luz

NK: Natural Killer

ptc: capillaritis peritubular

ptcml: multilaminación de la membrana basal capilar peritubular

pvl: nivel de carga de poliomavirus intrarrenal

RMCT: Rechazo mediado por células T

t: tubulitis

t-IFTA: tubulitis en corteza cicatrizal

v: endarteritis

CAPÍTULO I

RESUMEN

Antecedentes: Cuando un paciente presenta insuficiencia renal crónica terminal, el tratamiento de elección será el trasplante renal, ya que tiene grandes beneficios en la supervivencia y en mejorar su calidad de vida. En 2019 se realizaron en México 2,939 trasplantes renales. En nuestro hospital se realizaron 230 trasplantes renales entre el 2001 y el 2020.

Después de realizado el trasplante renal, si el donador y el receptor no son idénticos genéticamente, el sistema inmune del receptor va a reconocer al órgano como un cuerpo extraño y desencadenara la respuesta inmune de rechazo.

La distinción entre el rechazo humoral agudo y el rechazo celular agudo en los trasplantes renales es de crucial importancia para el tratamiento, pero es un reto diagnóstico para el patólogo. Se ha venido utilizando desde hace décadas la escala de clasificación de Banff para determinar el tipo de rechazo, en este sistema se toman en cuenta algunas variantes morfológicas, sin embargo, no considera el tipo de linfocitos que se presenta. La prevención, diagnóstico temprano y tratamiento oportuno del rechazo agudo son de vital importancia en los equipos interdisciplinarios de trasplante renal.

Objetivo: Inmunotipificar los linfocitos presentes en biopsias renales por rechazo y descripción de los tipos de linfocitos presentes en rechazo humoral o celular.

Materiales y métodos: Se incluyeron 22 casos de biopsias de injerto renal con diagnóstico de rechazo, se realizaron estudios de inmunohistoquímica para CD20, CD3, CD4 y CD8.

Resultados: De todas las células que resultaron positivas para CD20, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 102 linfocitos (90%), y en rechazo celular 12 linfocitos (10%). De las células positivas para CD4, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 61 linfocitos (54%), y en rechazo celular 52 linfocitos (46%). Las células positivas para CD3, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral se contaron 5 linfocitos (8%), y en rechazo celular 60 linfocitos (92%). Y por último de las células CD8 positivas, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 8 linfocitos (14%), y en rechazo celular 50 linfocitos (86%).

Conclusiones: Es posible definir en presencia de rechazo el mecanismo humoral o celular mediante la inmunotipificación de las células linfoides. La inmunotipificación de las células linfoides en las biopsias de injertos renales en cuanto a su característica de linfocito B, y T cooperador y citotóxico coincidió con el diagnóstico previo de rechazo humoral o celular. Para rechazo celular es más útil CD3 y CD8; para rechazo humoral CD20; CD4 se expresa en ambos. La inmunotipificación de linfocitos funciona como una forma complementaria para llegar al diagnóstico de rechazo celular o humoral, sin embargo, son necesarias investigaciones con mayor número de casos.

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

SISTEMA INMUNITARIO

El sistema inmunitario se divide en dos tipos: el innato y el adaptativo. En el innato se encuentran involucrados el complemento, los neutrófilos, macrófagos y las células NK. El sistema inmunitario adaptativo es capaz de distinguir estructuras propias y extrañas al organismo; las células B, T y células presentadoras de antígeno son los encargados de llevar este tipo de respuesta inmunitario y reaccionan a la presencia de antígenos. Esta reacción está dada por la producción de anticuerpos o inmunoglobulinas, las cuales se unen al antígeno. Se le llama respuesta humoral cuando esta depende de anticuerpos y respuesta celular cuando es citotóxica (por células T) (1).

Cuando las células inmunitarias son expuestas a un antígeno por primera vez, reaccionan de forma lenta y leve; sin embargo, en ocasiones subsecuentes la respuesta inmune es rápida y muy intensa, debido a que nuestro sistema tiene memoria inmunitaria. Los linfocitos B y T son inocentes antes de estar expuestos a antígenos, pero una vez que entran en contacto, esta célula prolifera y forma células activadas y de memoria (2).

Estas células activadas están encargadas de ejecutar una respuesta inmune; las células plasmáticas provienen de las células B y secretan anticuerpos; las células T liberan citocinas o destruyen las células alteradas (3).

Los linfocitos B, se capacitan en la médula ósea, una vez que se activa se divide y forma células plasmáticas y células B de memoria. La primera vez que los linfocitos B inocentes son activados secretan IgM que a su vez activa el sistema de complemento; ya que se produjo IgM esta célula es capaz de producir otra clase de inmunoglobulina, que se determina por las citocinas (liberada por células T cooperadoras) que están en el microambiente de este linfocito B. La mayoría de los antígenos necesitan de una célula T intermediaria para inducir una respuesta humoral.

Los linfocitos T se capacitan en el timo, mediante la expresión de moléculas en la superficie celular. El CD3 se expresa en todas las células T, mientras que el CD4 en las células cooperadoras y el CD8 en las citotóxicas. Las células cooperadoras liberan citocinas para modular la actividad inmunitaria de otras células; mientras que las citotóxicas reconocen células extrañas y las destruyen.

TRASPLANTE RENAL

Cuando un paciente presenta insuficiencia renal crónica terminal, el tratamiento de elección será el trasplante renal, ya que tiene grandes beneficios en la supervivencia y en mejorar su calidad de vida.

Cuando una persona recibe un trasplante renal, si su donante y el no son idénticos genéticamente, su sistema inmune lo reconocerá como agente extraño y desencadenará una respuesta, lo que se conoce como rechazo (4), que es la principal complicación del trasplante renal; sin embargo, también hay que tomar en cuenta la enfermedad de base y la nefrotoxicidad de algunas drogas inmunosupresoras (5).

El rechazo agudo, que está dado principalmente por inmunidad celular, aparecerá durante el primer mes (6) aunque puede aparecer meses e incluso años posteriores al trasplante, al disminuir o cesar la terapia inmunosupresora. Si persiste esta respuesta de rechazo agudo, se instaurará el rechazo crónico, quien compromete la supervivencia del injerto (7). La prevención, diagnóstico temprano y tratamiento oportuno del rechazo agudo son de vital importancia en los equipos interdisciplinarios de trasplante renal.

BIOPSIA RENAL

La biopsia es el gold standard para evaluar el injerto, tiene un alto valor diagnóstico y pronóstico, ya que las decisiones terapéuticas están basadas en su resultado (8).

Las biopsias a injertos renales se realizan en tres tiempos:

- Biopsia tiempo cero: al momento del trasplante
- Biopsia de protocolo: a intervalos predefinidos
- Biopsia indicada: en cualquier momento, para determinar la extensión de cicatriz tubulointersticial o bien, para definir la causa de falla del injerto (ej. rechazo, daño tubular agudo, enfermedad renal recurrente, infecciones, toxicidad a medicamentos)

La interpretación de la biopsia es retadora ya que varios procesos patológicos pueden ocurrir al mismo tiempo. Además de que debe realizarse con premura ya que se tomaran decisiones terapéuticas basadas en diagnósticos preliminares, incluso antes de que se hayan practicado todos los estudios pertinentes al espécimen.

La distinción entre el rechazo humoral agudo y el rechazo celular agudo en los trasplantes renales es de crucial importancia para el tratamiento, pero es un reto diagnóstico para el patólogo (9). Se ha venido utilizando desde hace décadas la escala de clasificación de Banff para determinar el tipo de rechazo, en este sistema se toman en cuenta algunas variantes morfológicas, sin embargo, no considera el tipo de linfocitos que se presenta (10).

Antes de realizar la biopsia se deben tener en cuenta la suficiencia del espécimen, el diámetro de la aguja recomendado es de 16-gauge, ya que no aumentan la morbilidad del estudio y proporcionan cantidad de tejido adecuado para realizar una interpretación confiable; deben contener por lo menos 10 glomérulos y 2 segmentos arteriales; se recomienda, cuando sea posible, tener dos cilindros, para incrementar el rendimiento diagnóstico, ya que en estadios tempranos se pueden tener cambios focales y si se evalúa solo un cilindro, podría ser no representativo de la patología que está ocurriendo en ese momento. En nuestro servicio, al ser tomada una biopsia renal, es valorada inmediatamente por los patólogos para saber si contaremos con el material suficiente tomando en cuenta cuales son los estudios solicitados (microscopía de luz, inmunofluorescencia, microscopía electrónica); de no ser así se comunica al médico intervencionista para que vuelva a puncionar al paciente. Cuando la muestra es suficiente, los cilindros son distribuidos para fijar en formaldehído al 10% (ML), otro fragmento es congelado (IF) y uno más es colocado en glutaraldehído (ME).

Una vez que tenemos la muestra, los cilindros destinados para ML se procesan con la técnica histológica y se obtienen cinco laminillas, de las cuales dos laminillas se tiñen en Hematoxilina y Eosina, una con ácido periódico de Shift, una con Tricrómico de Masson y una más con Metenammina de Plata.

Al fragmento para IF se le realizan anticuerpos anti-IgG, IgM, IgA, C3c, C1q, Fibrinógeno, Kappa y Lambda, usando albúmina como control.

En el caso de ME, el tejido es embebido en resina epoxy y se realizan cortes semifinos de 1 micrómetro los cuales se tiñen con azul de toluidina y se valora el tejido por ML para asegurar la presencia de glomérulos antes de su interpretación por ME.

ANTECEDENTES

En 2019 se realizaron 2939 trasplantes renales en México (11); mientras que en nuestro hospital se han realizado 260 trasplantes del 2001 al 2020.

Los principales blancos antigénicos del injerto renal son los antígenos ABO (de los grupos sanguíneos) y los antígenos HLA.

El rechazo se da cuando las células T y los anticuerpos que se producen contra antígenos del injerto interaccionan contra el tejido y lo destruyen. Las células B también pueden reconocer antígenos en el injerto, su activación requiere la ayuda del linfocito T. Los linfocitos T están implicados en el rechazo agudo y crónico.

El rechazo celular agudo los linfocitos T CD4+ activados secretan citocinas y la inflamación aumenta la permeabilidad vascular y se acumulan linfocitos y macrófagos, estos últimos se activan y producen el daño tisular. Y en el rechazo crónico el daño se produce por la secreción de citocinas que conllevan inflamación local y proliferación de células endoteliales y de músculo liso.

El rechazo mediado por anticuerpos, también conocido como rechazo humoral se puede ver como rechazo hiperagudo, agudo y crónico. En general se conocen los siguientes tipos de rechazo del injerto renal:

RECHAZO HIPERAGUDO

Los antígenos ABO se expresan en las células endoteliales y eritrocitos. Se presenta en minutos después de realizado el trasplante. Ya que los anticuerpos contra estos antígenos fueron preformados, al unirse a las células endoteliales del injerto causan rechazo inmediato. Aparecen depósitos de complemento e inmunoglobulinas en la pared de los vasos, que ocasiona daño endotelial y formación de trombos de plaquetas y fibrina. En los glomérulos, arteriolas y capilares peritubulares se acumular neutrófilos, que conlleva a una trombosis de los capilares y necrosis fibrinoide en las paredes de las arterias.

RECHAZO HUMORAL AGUDO

Histopatológicamente puede no tener cambios o estos ser muy discretos. Hay anticuerpos contra el donante, que se producen después del trasplante; estos causan daño en manera importante a la vasculatura del injerto de varias formas, como por complemento, inflamación y citotoxicidad que depende de anticuerpos.

Los neutrófilos y linfocitos incrementan en cantidad en los túbulos, capilares glomerulares y peritubulares. El C4d (producto de activación del complemento) se localiza en las paredes de estos capilares. El 1% de los casos presenta arteritis necrotizante con necrosis fibrinoide de la media; a un año, a pesar de inmunosupresión, únicamente el 30% de los injertos sobrevive. El principal hallazgo histológico es glomerulitis e inflamación de los capilares peritubulares con depósito de C4d.

El rechazo del injerto renal se clasifica según su histopatología, evolución clínica y etiopatogenia; se debe tener en cuenta que se pueden presentar diferentes tipos de rechazo en el mismo momento.

RECHAZO CELULAR AGUDO

Es el tipo más frecuente de rechazo del injerto renal. Está dado por infiltrado inflamatorio de linfocitos T y macrófagos en los túbulos, glomérulos, arteriolas o intersticio.

La tubulitis se observa como células linfoides en el epitelio o la membrana tubular. La arteritis se caracteriza por presencia de linfocitos T y monocitos, que pasan a través del endotelio, expanden la íntima. Los pacientes con tubulitis, con

y sin endoarteritis, tienen supervivencia del injerto a 1 año en el 80% y 60% respectivamente.

RECHAZO CRÓNICO

Afecta las arterias de todos los tamaños. Hay engrosamiento de la íntima por depósito de matriz. Puede haber células espumosas. Se observa engrosamiento de los capilares peritubulares y reduplicación de la membrana basal. También se presenta fibrosis e inflamación intersticial y atrofia de los túbulos por el estrechamiento de las arterias que condiciona isquemia.

Las paredes de los capilares glomerulares se engruesan por la expansión de la zona subendotelial y reduplicación de la membrana basal glomerular. El mesangio se expande.

El fallo en el injerto renal ocurre en el 30% en el primer año postrasplante; disminuye del 2 al 4% cada año. Los hallazgos de la biopsia modifican el diagnóstico clínico en el 36% de los casos.

SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE BANFF

Cada dos años se reúne un comité que está encargado de establecer los criterios para evaluar las biopsias por rechazo y clasificarlas. La más reciente es la XV Conferencia Banff para Patología del injerto, que se llevó a cabo en septiembre de 2019 en Pittsburgh, PA. (12)

Existen cinco categorías diagnósticas de rechazo renal:

Categoría 1: Biopsia normal o cambios no específicos.

Categoría 2: Cambios mediados por anticuerpos (CMA)

Categoría 3: Cambios sospechosos de rechazo agudo mediado por células T

Categoría 4: Rechazo mediado por células T (RMCT)

Categoría 5: Nefropatía por poliomavirus

La categoría 2 corresponde a cambios mediados por anticuerpos y se divide en tres tipos:

AGUDO

Debe cumplir con los 3 criterios siguientes:

1. Evidencia histológica de lesión tisular aguda con 1 o más de los siguientes:
 - Inflamación microvascular ($g > 0$ y/o $ptc > 0$), en ausencia de glomerulonefritis recurrente o de novo
 - Arteritis transmural o intimal ($v > 0$)
 - Microangiopatía trombótica aguda
 - Daño tubular agudo
2. Evidencia de interacción actual o reciente de anticuerpos con el endotelio vascular, que incluya por lo menos 1 de los siguientes:
 - Tinción de C4d lineal en capilares peritubulares o vasa recta medulares.
 - Inflamación microvascular ($[g + ptc]$ mayor o igual a 2) siempre y cuando no haya glomerulonefritis recurrente o de novo. (aunque en presencia de TCMR agudo, infiltrado borderline o infección ptc mayor o igual a 2 por sí misma no es suficiente y g debe ser mayor o igual a 1)
 - Expresión incrementada de genes transcritores/clasificadores en el tejido de la biopsia, asociado fuertemente con CMA.
3. Evidencia serológica de anticuerpos específicos del donador circulantes.

CRÓNICO ACTIVO

Debe cumplir con los 3 criterios para realizar el diagnóstico:

1. Evidencia morfológica de daño tisular crónico, que incluya uno o más de los siguientes:
 - Glomerulopatía del trasplante (cg>0) si no hay evidencia de CMA o glomerulonefritis recurrente o de novo; incluye cambios solo evidentes por microscopía electrónica (cg1a)
 - Severa multilaminación de la membrana basal capilar peritubular (ptcml1)
 - Fibrosis arterial intimal de novo, excluyendo otras causas.
2. El mismo criterio 2 para CMA activa.
3. El mismo criterio 3 para CMA activa.

CRÓNICO (INACTIVO)

1. cg>0 y/o ptcml severa
2. Ausencia de criterio 2 de interacción de anticuerpos con el endotelio actual o reciente
3. Diagnóstico previo documentado de CMA activa o crónica activa y/o DSA.
4. Tinción C4d sin evidencia de rechazo con las siguientes características presentes:
 - Tinción de C4d lineal en capilares peritubulares (C4d2 o C4d3 por IF o C4d>0 por IHQ)

- Criterio 1 para CMA activa o crónica activa no se cumple
- No evidencia molecular de CMA como en criterio 2 para CMA activa y crónica activa
- No RMCT agudo o crónico activo, o cambios sospechosos

La categoría 3 corresponde a cambios sospechosos para rechazo mediado por células T agudo y debe cumplir los siguientes criterios:

1. Focos de tubulitis (t1, t2 o t3) con inflamación intersticial leve (i1), o tubulitis leve (t1) con inflamación intersticial moderada o severa (i2 o i3)
2. No arteritis intimal o transmural (v=0)

La categoría 4 corresponde a rechazo mediado por células T y se divide de la siguiente manera:

AGUDO

GRADO IA: Inflamación intersticial en >25% del parénquima cortical no esclerótico (i2 o i3) con tubulitis moderada (t2) que involucra 1 o más túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos.

GRADO IB: Inflamación intersticial en más del 25% del parénquima cortical no esclerótico (i2 o i3) con tubulitis severa (t3) que involucra 1 o más túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos.

GRADO IIA: Arteritis intimal leve a moderada (v1), con o sin inflamación intersticial y/o tubulitis

GRADO IIB: Arteritis intimal severa (v2), con o sin inflamación intersticial y/o tubulitis

GRADO III: Arteritis intimal y/o necrosis arterial fibrinoide que involucra la capa medial de musculo liso acompañada de arteritis intimal mononuclear (v3), con o sin inflamación intersticial y/o tubulitis.

CRONICO ACTIVO

GRADO IA: Inflamación intersticial en más del 25% del parénquima cortical esclerótico (i-IFTA2 o i-IFTA3) Y más del 25% del parénquima cortical total (ti2 o ti3) con tubulitis moderada (t2 o t-IFTA 2) que involucra 1 o más túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos; se deben descartar otras causas de i-IFTA.

GRADO IB: Inflamación intersticial en más del 25% del parénquima cortical esclerótico (i-IFTA2 o i-IFTA3) Y más del 25% del parénquima cortical total (ti2 o ti3) con tubulitis moderada (t2 o t-IFTA 2) que involucra 1 o más túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos; se deben descartar otras causas de i-IFTA.

GRADO II: Arteriopatía crónica del trasplante (fibrosis arterial intimal con inflamación mononuclear en la fibrosis y formación de neoíntima). Esto también puede corresponder a una manifestación de ABMR crónica o crónica activa o ABMR/TCMR mixta.

La CATEGORÍA 5 corresponde a Nefropatía por poliomavirus y se clasifica de la siguiente manera:

PVN CLASE 1

- pvl 1 y ci 0-1

PVN CLASE 2

- pvl 1 y ci 2-3 o
- pvl 2 y ci 0-3 o
- pvl 3 y ci 0-1

PVN CLASE 3

- pvl 3 y ci 2-3

TABLA 1. Esquema de estandarización de reporte de Banff.

AGUDO	CRONICO	CRÓNICO ACTIVO
i (inflamación)	ci (fibrosis intersticial en corteza)	ti (inflamación cortical total)
t (tubulitis)	ct (atrofia tubular en corteza)	i-IFTA (inflamación en corteza cicatrizal)
v (endarteritis)	cv (fibrosis arterial intimal)	t-IFTA (tubulitis en corteza cicatrizal)
g (glomerulitis)	cg (glomerulopatía crónica)	pvl (nivel de carga de poliomavirus intrarrenal)
ptc (capillaritis peritubular)	ptcml (multilaminación de la membrana basal capilar peritubular)	
C4d lineal en ptc		

TABLA 2. Puntuaciones de Banff individuales utilizadas en la clasificación de CMA y RMCT agudos y crónico activos.

	GRADO 0	GRADO 1 LEVE	GRADO 2 MODERADO	GRADO 3 SEVERO
i	Ausente o <10% en corteza no cicatrizal	10-25%	26-50%	>50%
t	Ninguno	1-4 leucocitos mononucleares por túbulo o 10 células epiteliales tubulares	5-10 leucocitos mononucleares por túbulo	>10 leucocitos mononucleares por túbulo
v	Ninguno	1 o más leucocitos directamente entre el endotelio de 1 o más arterias; menos de 25% de oclusión luminal	1 o más leucocitos directamente entre el endotelio de 1 o más arterias; más del 25% de oclusión luminal	Necrosis arterial fibrinoide o inflamación transmural
g	Ninguno	Mayor o igual a 1 leucocito Y	25-75% glomérulos	Más del 75% de los glomérulos

		edema endotelial asociado ocluyendo más del 50% de 1 o más de las luces capilares en al menos 1 pero menos del 25% de los glomérulos	afectados	afectados
ptc	Mínima con menos de 3 leucocitos en la corteza más severamente dañada y/o leucocitos en menos del 10% de capilares peritubulares corticales	3 o más leucocitos en la corteza más severamente dañada Y 1 o más leucocitos en más del 10% de capilares peritubulares corticales	5 a 10 leucocitos en la corteza más severamente dañada Y 1 o más leucocitos en más del 10% de capilares peritubulares corticales	Más de 10 leucocitos en la corteza más severamente dañada Y 1 o más leucocitos en más del 10% de capilares peritubulares corticales
C4d	Ninguna	Tinción del 1-10% de PTC	Tinción del 10-50% de PTC	Tinción en más del 50% de PTC

ci	Mínima Menos o igual a 5	6-25%	26-50%	Más del 50%
ct	Ninguna	1-25%	26-50%	Más del 50%
cv	Ninguna	1-25% de estrechamiento de área luminal en la arteria más afectada	26-50% de estrechamiento de área luminal en la arteria más afectada	Más del 50% de estrechamiento de área luminal en la arteria más afectada
cg	Ninguna, no doble contorno de membrana basal glomerular por microscopia de luz o ME	1a Leve temprano no dobles contornos de GMB por ML pero neo-densa subendotelial en 3 o capilares glomerulares por ME con agrandamiento endotelial asociado. 1b Leve dobles contornos por ML en 1-25% de	Dobles contornos por ML en 26- 50% de capilares glomerulares por ML en el glomérulo más afectado	Dobles contornos por ML en más del 50% de capilares glomerulares por ML en el glomérulo más afectado

		capilares glomerulares por ML en el glomérulo más afectado		
ptcml	ME no realizada	7 o más capas en la membrana basal del PTC más afectado Y más de 5 capas en dos PTC adicionales		
ti	Ausente o mínima menor al 10%	10-25%	26-50%	Más del 50%
i- IFTA	Ausente o mínima menor al 10%	10-25%	26-50%	Más del 50%
t- IFTA	Ausente	1-4 leucocitos mononucleares por túbulo o 10 células epiteliales tubulares	5-10 leucocitos mononucleares por túbulo o 10 células epiteliales	Más de 10 leucocitos mononucleares por túbulo o 10 células

			tubulares	epiteliales tubulares
pvl		Células positivas en el 1% de los túbulos o menos	Células positivas en menos del 1 al 10% de los túbulos	Células positivas en más del 10% de los túbulos

CAPÍTULO III

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad no hay un estudio que identifique el inmunofenotipo de linfocitos que se presentan en las biopsias de riñón por rechazo. A pesar de que han realizado investigaciones para inmunotipificar el infiltrado linfocítico en trasplantes de algunos órganos como corazón o hígado, aún no hay un estudio dónde se haya aplicado a los injertos renales.

En el 2020 Hyeon Joo Jeong (12) sugiere que inmunotipificar los linfocitos en injertos renales conlleva algunos beneficios como ayudar en el entendimiento y en distinguir las fases de la actividad inflamatoria que se está llevando a cabo.

CAPÍTULO IV

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Inmunotipificar los linfocitos presentes en biopsias renales por rechazo y descripción de los tipos de linfocitos presentes en rechazo humoral o celular.

OBJETIVO SECUNDARIO

Inmunotipificar los linfocitos con CD20, CD4, CD3 y CD8 para describir cómo se presentan en los diferentes tipos de rechazo.

CAPÍTULO V

HIPÓTESIS

Es posible definir, en presencia de rechazo, el mecanismo humoral o celular mediante la inmunotipificación de las células linfoides.

HIPÓTESIS NULA

No es posible definir, en presencia de rechazo, el mecanismo humoral o celular mediante la inmunotipificación de las células linfoides.

CAPÍTULO VI

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO METODOLÓGICO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, transversal, descriptivo y retrospectivo.

TIPO DE ESTUDIO

Encuesta o cohorte transversal (estudio poblacional).

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para la realización de este estudio se incluyeron todos los casos de biopsias renales por rechazo de trasplante que se encontraron en la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, durante los años 2013 al 2018.

- CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN:

- a) CRITERIOS DE INCLUSIÓN: Todos los casos de sospecha de rechazo renal que se encuentren en la base de datos PATHOX del 2013 al 2020.

22 casos

b) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: Casos de los que no se cuente con bloques de parafina en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica.

4 casos

c) CRITERIOS DE ELIMINACIÓN: Casos de los cuales el tejido no se encuentre adecuadamente preservado.

4 casos

En cuanto a los mecanismos de confidencialidad llevados a cabo para proteger la identidad de los pacientes, el servicio de Anatomía Patológica utiliza un sistema de enumeración interna, el cual nos permite guiarnos para llevar a cabo la investigación sin tener que utilizar la información personal del paciente, por lo que ningún dato personal como nombre, dirección o teléfono estarán en la base de datos y/o publicación que derive.

CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA

La muestra es por conveniencia, pareada, total, incluyendo todos los casos de rechazo de trasplante renal.

DESCRIPCION DEL DISEÑO

Al ser un estudio retrospectivo, todos los casos provienen de los archivos de nuestro Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Se realizó una búsqueda en la base de datos Pathox (TESI INFORMATICA) del 2013 al 2018 cumpliendo con los criterios de inclusión. Se obtuvieron de archivo las laminillas y los bloques de parafina; se observaron las laminillas en el microscopio y se reevaluaron los datos histológicos de rechazo y se seleccionaron los bloques para la realización de histoarreglos.

Los histoarreglos fueron teñidos con hematoxilina y eosina y se realizaron marcadores de inmunohistoquímica para CD20, CD3, CD4 y CD8 (Figuras 1 y 2) usando la plataforma automatizada Ventana Benchmark XT, con las clonas mencionadas en la Tabla 1; posteriormente el material fue devuelto al archivo de Anatomía Patológica. Antes de realizar los histoarreglos, se verificó que quede material disponible en el bloque de parafina, los bloques que no tienen material suficiente fueron eliminados del estudio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis univariado de los datos por medio de frecuencias y porcentajes para variables categóricas, y medidas de tendencia central y de dispersión para variables continuas, según corresponda, previa valoración de normalidad de los datos por medio de Kolmogorov – Smirnov.

Los resultados se reportan en tablas y se clasifican los casos en base a su diagnóstico histopatológico.

Tabla 3. Anticuerpos utilizados para la realización de inmunohistoquímica a los histoarreglos.

ANTICUERPO	TIPO	CLONA	FUENTE	DILUCIÓN
CD20	Monoclonal	L26	Ventana	1:5
CD3	Monoclonal	SP35	Ventana	1:1
CD4	Monoclonal	2GV6	Ventana	1:3
CD8	Monoclonal	C8/144B	Dako	1:50



Figura 1. Histoarreglos e inmunohistoquímica para CD20, CD4, CD3 y CD8 realizada a cada uno de ellos.

Se contaron los linfocitos que expresaron cada uno de los marcadores ya mencionados en los vasos, los túbulos, el intersticio y los glomérulos de cada caso (Figuras 3, 4 y 5).

En los vasos se tomaron en cuenta los linfocitos endoteliales y perivasculares; en los túbulos, los linfocitos epiteliales, intramembranosos y peritubulares; y en los glomérulos los linfocitos en la capsula de Bowman y en los capilares glomerulares.

El conteo se realizó tomando en cuenta todos los linfocitos presentes en un campo de alto poder (40x) en las localizaciones antes mencionadas.

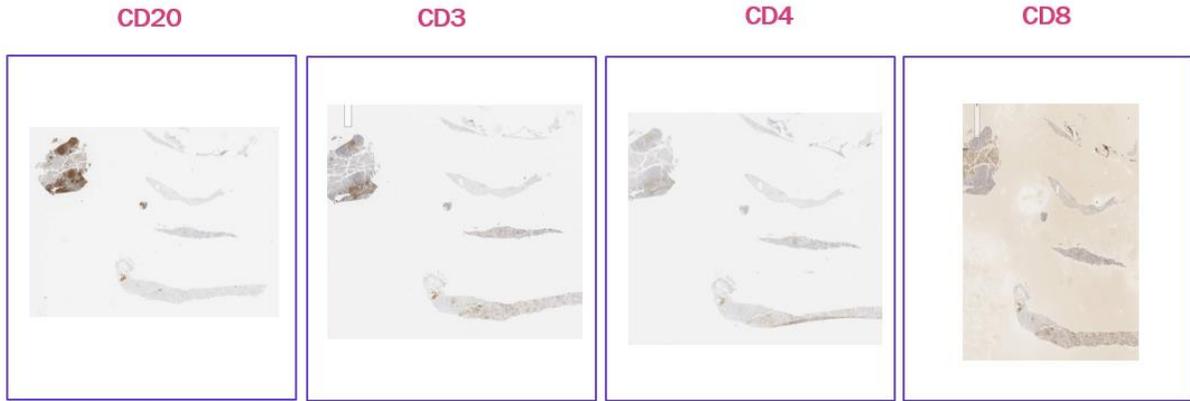


Figura 2. Ejemplo de un histoarreglo y de cada uno de los marcadores de inmunohistoquímica realizados.

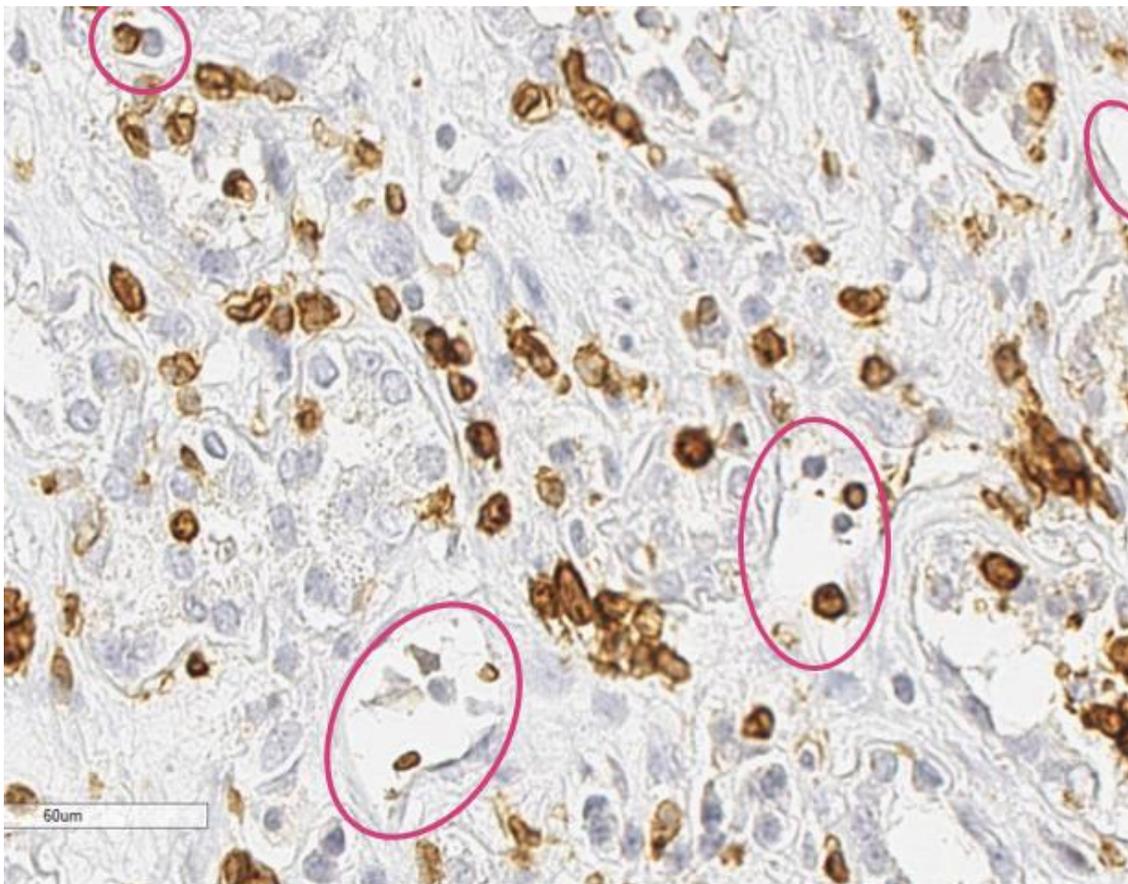


Figura 3. Ejemplo de conteo de linfocitos y cantidad de vasos sanguíneos en un campo de alto poder (40x).

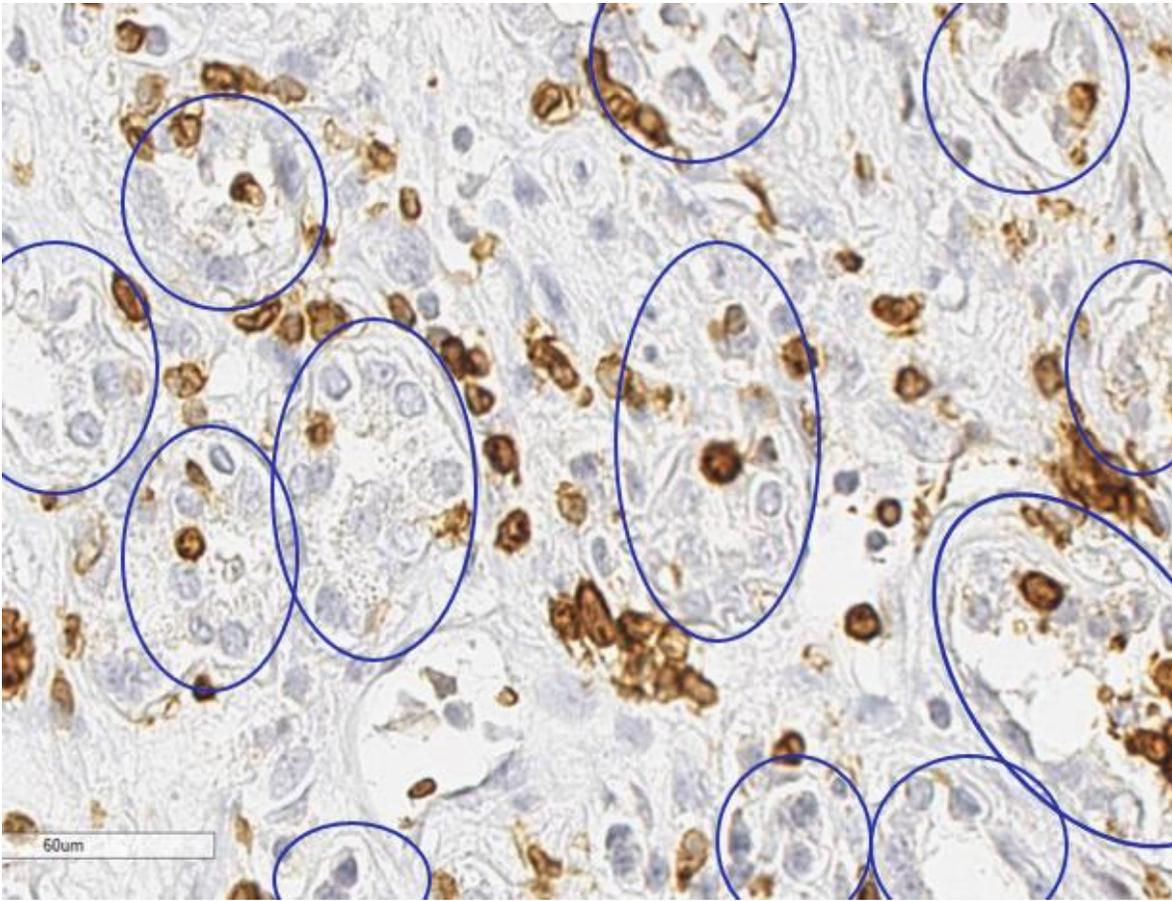


Figura 4. Ejemplo de conteo de linfocitos y cantidad de túbulos en un campo de alto poder (40x).

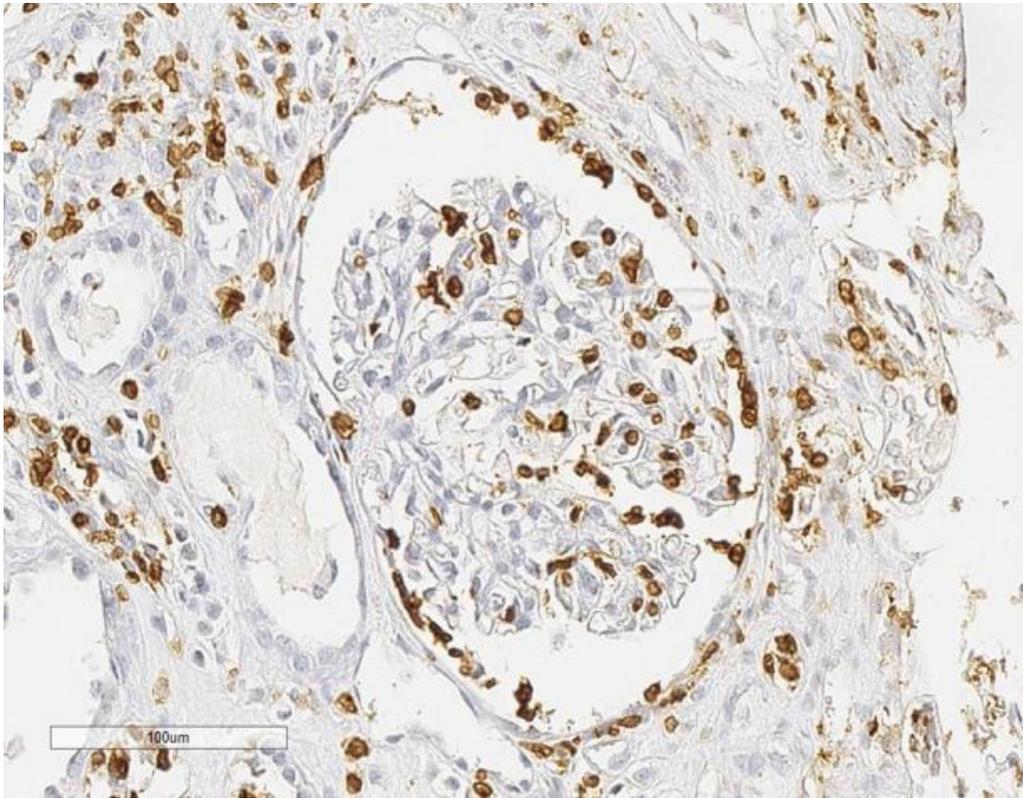


Figura 5. Ejemplo de conteo de linfocitos en un glomérulo, incluyendo los presentes en capilares glomerulares y cápsula de Bowman.

CAPÍTULO VII

RESULTADOS

De los 22 casos que se encuentran en la base de datos del servicio de Anatomía Patológica y Citopatología, 4 fueron excluidos ya que no se contaba con los bloques de parafina en el archivo y 4 fueron eliminados ya que el tejido no era suficiente para la realización de Inmunohistoquímica, quedando un total de 14 casos, de los cuales 11 tienen diagnóstico histológico de rechazo celular y 3 de rechazo humoral.

El conteo de linfocitos se documentó y se hizo un cálculo del promedio de la cantidad de linfocitos expresados en cada localización (Tabla 4); al final se promediaron según los casos de cada tipo de rechazo (Tablas 5 y 6). Se realizaron graficas de cada caso de rechazo celular y humoral (Gráficas 1 y 2), una gráfica comparativa entre ambos tipos de rechazo (Gráfica 3) y del promedio (Gráfica 4).

Se correlaciono cuantas células que expresaron cada inmunomarcador se presentaron en cada tipo de rechazo y por componente histológico.

El promedio de la cantidad de linfocitos CD20 en biopsias con rechazo celular son 3 en vasos, 2 en túbulos, 6 en intersticio y 1 en glomérulos, representando el 37%, 14%, 11% y 3% respectivamente; mientras que para rechazo humoral fue de 5 en vasos, 13 en túbulos, 47 en intersticio y 37 en glomérulos, representando el 63%, 86%, 89% y 97% respectivamente (Tabla 7).

El promedio de la cantidad de linfocitos CD4 en biopsias con rechazo celular son 3 en vasos, 5 en túbulos, 38 en intersticio y 6 en glomérulos, representando el 43%, 29%, 51% y 43% respectivamente; mientras que para rechazo humoral fue de 4 en vasos, 12 en túbulos, 37 en intersticio y 8 en glomérulos, representando el 57%, 71%, 49% y 57% respectivamente (Tabla 8).

El promedio de la cantidad de linfocitos CD3 en biopsias con rechazo celular son 4 en vasos, 3 en túbulos, 50 en intersticio y 3 en glomérulos, representando el 67%, 60%, 100% y 75% respectivamente; mientras que para rechazo humoral fue de 2 en vasos, 2 en túbulos, ninguno en intersticio y 1 en glomérulos, representando el 33%, 40%, 0% y 25% respectivamente (Tabla 9).

El promedio de la cantidad de linfocitos CD8 en biopsias con rechazo celular son 4 en vasos, 2 en túbulos, 38 en intersticio y 6 en glomérulos, representando el 80%, 67%, 88% y 86% respectivamente; mientras que para rechazo humoral fue de 1 en vasos, 1 en túbulos, 5 en intersticio y 1 en

glomérulos, representando el 20%, 33%, 12% y 14% respectivamente (Tabla 10; Gráficas 5 y 6).

Se observa una clara correlación entre el tipo de infiltrado y el tipo de rechazo diagnosticado según la escala de Banff:

En el rechazo celular se contabilizaron 12 células CD20, 52 células CD4, 60 células CD3 y 50 células CD8, lo que representa el 7%, 30%, 34% y 29% respectivamente (Tabla 11), mientras que en el rechazo humoral se contaron 102 células CD20, 61 células CD4, 5 células CD3 y 8 células CD8, lo que representa el 58%, 35%, 3% y 4% respectivamente (Tabla 12).

De todas las células que resultaron positivas para CD20, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 102 linfocitos (90%), y en rechazo celular 12 linfocitos (10%). De las células positivas para CD4, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 61 linfocitos (54%), y en rechazo celular 52 linfocitos (46%). Las células positivas para CD3, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral se contaron 5 linfocitos (8%), y en rechazo celular 60 linfocitos (92%). Y por último de las células CD8 positivas, el promedio en las biopsias renales por rechazo humoral fueron 8 linfocitos (14%), y en rechazo celular 50 linfocitos (86%) (Tablas 13 y 14).

Tabla 4. Conteo de linfocitos de cada caso según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal.

CASO	LOCALIZACIÓN	CD20	CD4	CD3	CD8
CASO 1	VASOS	2	6	5	2
	TUBULOS	3	5	5	2
	INTERSTICIO	50	60	60	40
	GLOMÉRULOS	3	7	7	8
CASO 2	VASOS	0	1	1	3
	TUBULOS	0	1	1	1
	INTERSTICIO	0	3	10	6
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0
CASO 3	VASOS	2	5	2	3
	TUBULOS	1	3	1	2
	INTERSTICIO	15	50	6	20
	GLOMÉRULOS	2	1	2	4
CASO 4	VASOS	3	3	6	4
	TUBULOS	2	4	12	2
	INTERSTICIO	35	50	130	40
	GLOMÉRULOS	0	8	4	11
CASO 5	VASOS	5	4	2	10
	TUBULOS	2	2	3	3
	INTERSTICIO	100	95	120	120

	GLOMÉRULOS	3	35	6	30
CASO 6	VASOS	1	2	2	3
	TUBULOS	1	2	1	2
	INTERSTICIO	3	15	60	20
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0
CASO 7	VASOS	3	2	4	2
	TUBULOS	4	3	2	2
	INTERSTICIO	50	60	40	40
	GLOMÉRULOS	0	3	4	6
CASO 8	VASOS	1	2	3	2
	TUBULOS	1	1	1	4
	INTERSTICIO	10	12	20	14
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0
CASO 9	VASOS	7	2	4	3
	TUBULOS	1	2	3	2
	INTERSTICIO	20	60	60	50
	GLOMÉRULOS	3	5	7	4
CASO 10	VASOS	1	1	1	1
	TUBULOS	1	1	1	1
	INTERSTICIO	1	2	8	6
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0
CASO 11	VASOS	1	1	4	2
	TUBULOS	1	1	2	2

	INTERSTICIO	2	12	30	60
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0
CASO 12	VASOS	2	2	3	1
	TUBULOS	30	12	3	1
	INTERSTICIO	50	10	10	0
	GLOMÉRULOS	1	2	0	0
CASO 13	VASOS	7	3	1	2
	TUBULOS	2	5	2	1
	INTERSTICIO	60	60	20	15
	GLOMÉRULOS	100	20	3	2
CASO 14	VASOS	5	6	2	1
	TUBULOS	7	10	2	2
	INTERSTICIO	30	40	1	2
	GLOMÉRULOS	0	0	0	0

Tabla 5. Promedio de cantidad de linfocitos según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal en casos de rechazo celular.

	CD20	CD4	CD3	CD8
VASOS	3	3	4	4
TÚBULOS	2	5	3	2
INTERSTICIO	6	38	50	38
GLOMÉRULOS	1	6	3	6

Tabla 6. Promedio de cantidad de linfocitos según inmunofenotipo y localización en los componentes de la biopsia renal en casos de rechazo humoral.

	CD20	CD4	CD3	CD8
VASOS	5	4	3	1
TÚBULOS	13	12	2	1
INTERSTICIO	47	37	0	5
GLOMÉRULOS	37	8	1	1

Tabla 7. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD20 por localización.

	RECHAZO CELULAR (%)	RECHAZO HUMORAL (%)
VASOS	37	63
TÚBULOS	14	86
INTERSTICIO	11	89
GLOMÉRULOS	3	97

Tabla 8. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD4 por localización.

	RECHAZO CELULAR (%)	RECHAZO HUMORAL (%)
VASOS	43	57
TÚBULOS	29	71
INTERSTICIO	51	49
GLOMÉRULOS	43	57

Tabla 9. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD3 por localización.

	RECHAZO CELULAR (%)	RECHAZO HUMORAL (%)
VASOS	67	33
TÚBULOS	60	40
INTERSTICIO	100	0
GLOMÉRULOS	75	25

Tabla 10. Porcentaje de casos con rechazo celular y humoral que expresaron linfocitos CD8 por localización.

	RECHAZO CELULAR (%)	RECHAZO HUMORAL (%)
VASOS	80	20
TÚBULOS	67	33
INTERSTICIO	88	12
GLOMÉRULOS	86	14

Tabla 11. Cantidad y porcentaje del promedio de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo celular.

	CANTIDAD	PORCENTAJE
CD20	12	7%
CD4	52	30%
CD3	60	34%
CD8	50	29%

Tabla 12. Cantidad y porcentaje del promedio de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral.

	CANTIDAD	PORCENTAJE
CD20	102	58%
CD4	61	35%
CD3	5	3%
CD8	8	4%

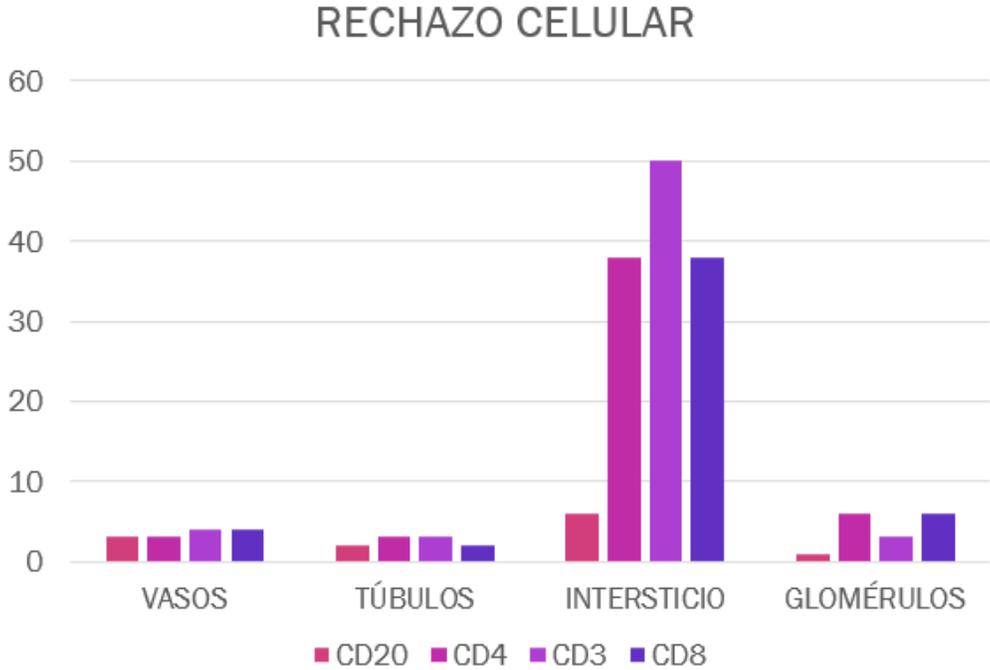
Tabla 13. Cantidad del total de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral y celular.

	RECHAZO HUMORAL	RECHAZO CELULAR
CD20	102	12
CD4	4	3
CD3	5	60
CD8	8	50

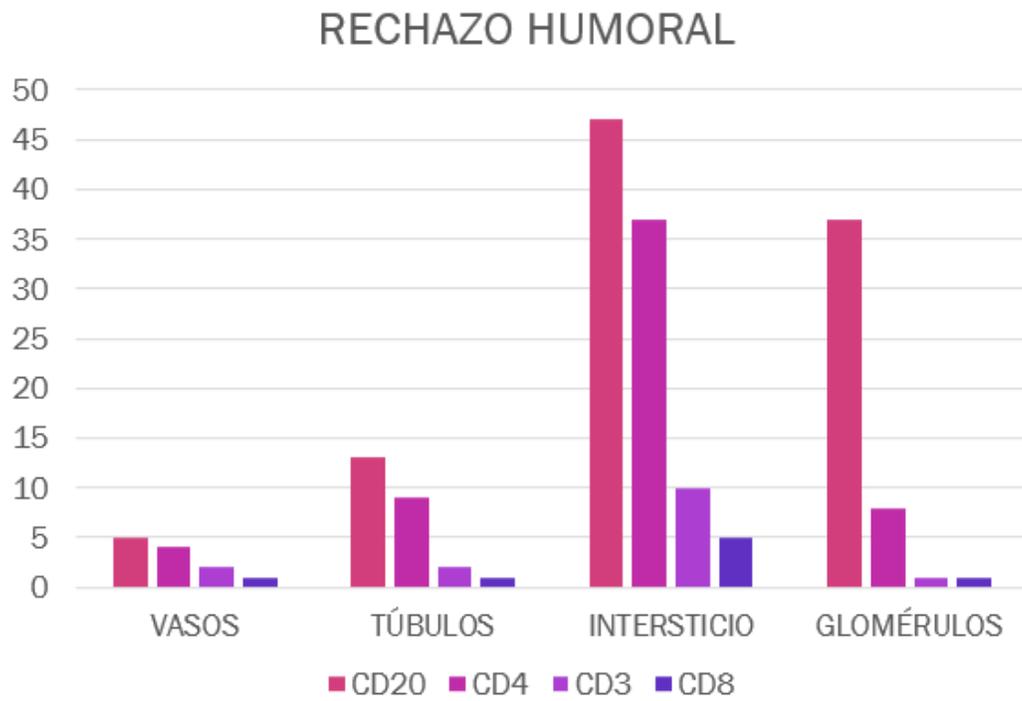
Tabla 14. Porcentaje del total de linfocitos CD20, CD4, CD3 y CD8 expresados en biopsias renales por rechazo humoral y celular.

	RECHAZO HUMORAL	RECHAZO CELULAR
CD20	90%	10%
CD4	54%	46%
CD3	8%	92%
CD8	14%	86%

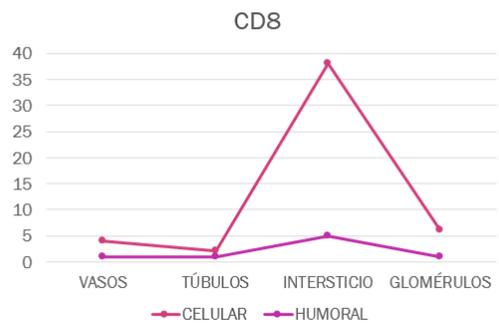
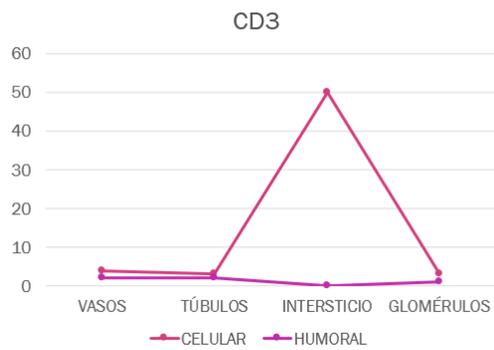
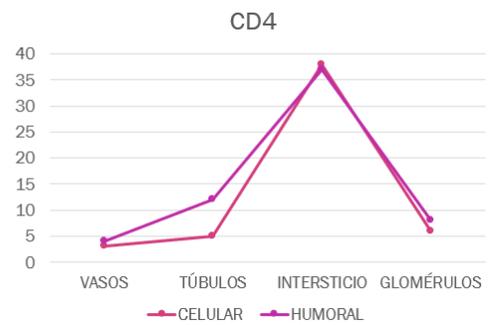
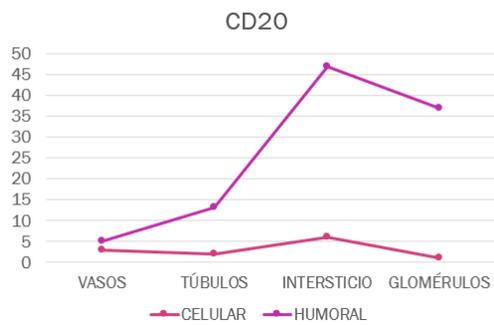
Gráfica 1. Cantidad de células por inmunofenotipo en rechazo celular y humoral.



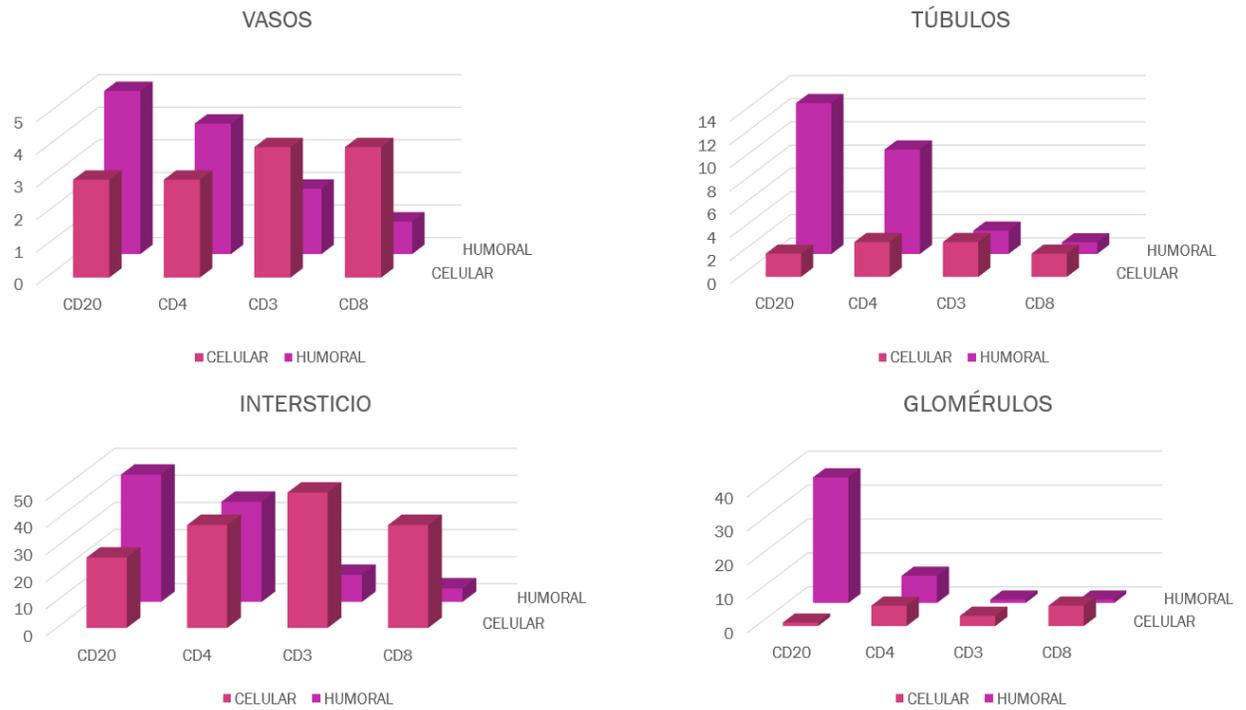
Gráfica 2. Cantidad de células por inmunofenotipo en rechazo humoral.



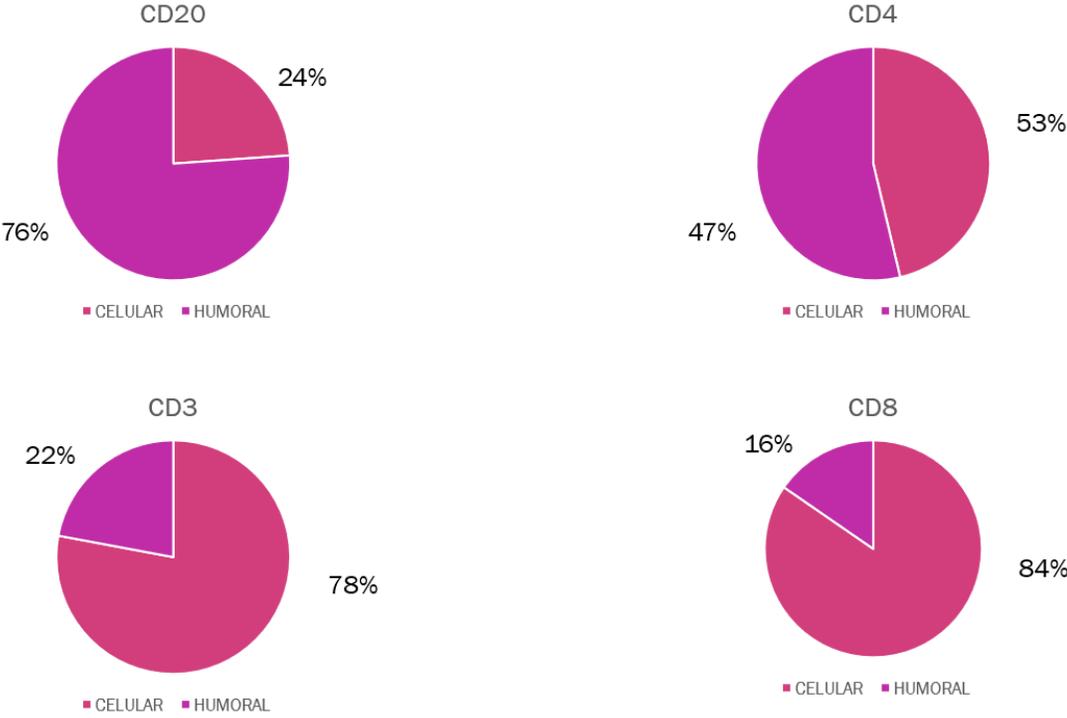
Gráfica 3. Cantidad de células por inmunofenotipo comparadas en rechazo celular y humoral.



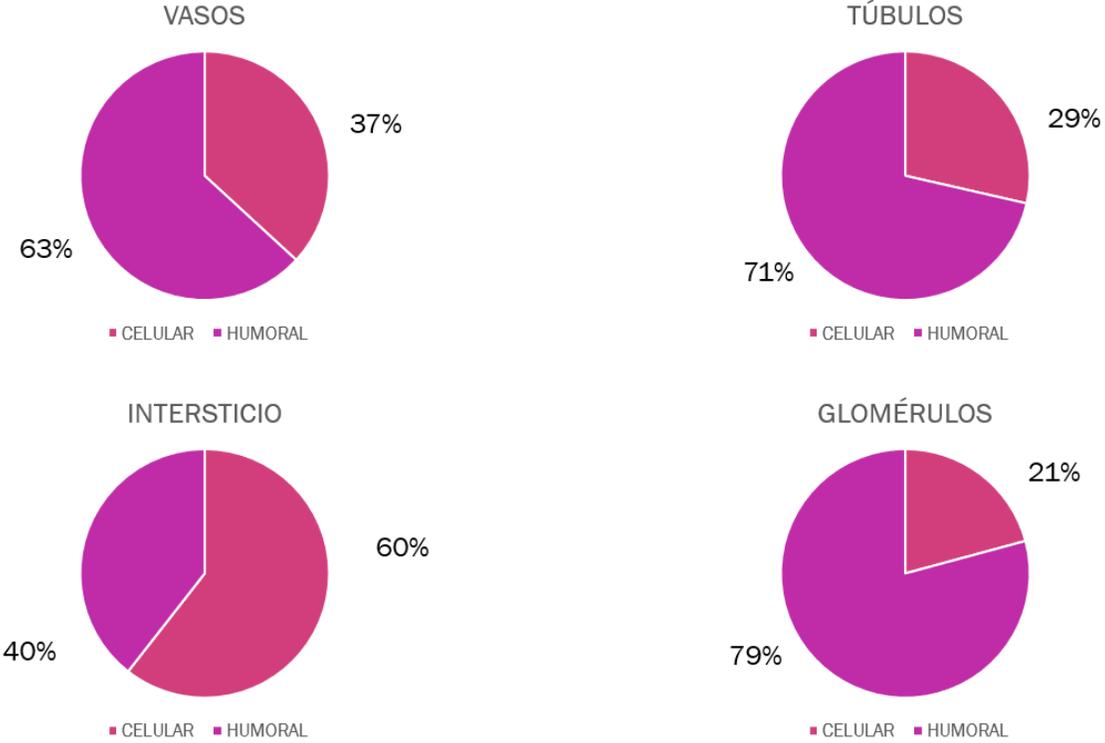
Gráfica 4. Cantidad de células según inmunofenotipo por localización en rechazo celular y humoral.



Gráfica 5. Porcentaje de células según inmunofenotipo en rechazo celular y humoral.



Grafica 6. Porcentaje de células según localización en rechazo celular y humoral.



CAPÍTULO VIII

DISCUSIÓN

En la actualidad realizar el diagnóstico de rechazo renal celular o humoral es sumamente difícil y minucioso y requiere expertise en el tema ya que la clasificación de Banff es sumamente compleja, sin embargo, los resultados que arroja el presente estudio demuestran que la inmunotipificación los linfocitos representa una herramienta útil para realizar dicho diagnóstico.

Con base en nuestros resultados recomendamos realizar a las biopsias renales por rechazo inmunohistoquímica para CD20, CD3 y CD8, ya que fueron los marcadores que demostraron ser de mayor utilidad; el CD4 se expresa en rechazo humoral y celular de forma muy similar, por lo que no se recomienda su uso para dicho propósito.

CAPÍTULO IX

CONCLUSIÓN

Es posible definir en presencia de rechazo el mecanismo humoral o celular mediante la inmunotipificación de las células linfoides. La inmunotipificación de las células linfoides en las biopsias de injertos renales en cuanto a su característica de linfocito B, y T cooperador y citotóxico coincidió con el diagnóstico previo de rechazo humoral o celular. Para rechazo celular es más útil CD3 y CD8; para rechazo humoral CD20; CD4 se expresa en ambos. La inmunotipificación de linfocitos funciona como una forma complementaria para llegar al diagnóstico de rechazo celular o humoral, sin embargo, son necesarias investigaciones con mayor número de casos.

CAPÍTULO X

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mills, Stacey. Histology for Pathologists. 2019. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins (LWW).
2. Gartner, L. and Hiatt, J., 2014. Color Atlas And Text Of Histology. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
3. Ross, M. and Pawlina, W., 2015. Histology: A Text And Atlas. 7th ed. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins.
4. Kumar, Vinay, Abul K. Abbas, and Jon C. Aster. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2015.
5. Strayer, and Emanuel Rubin. Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine. Sixth Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
6. A. Sánchez Fructuoso, D. Prats. Rechazo y otras complicaciones Clínicas Urológicas de la Complutense, 7 (1999), pp. 438-446

7. M. Gil, M. Marqués Inmunosupresores. Bases para la atención farmacéutica al paciente trasplantado Edipharma, (2005)
8. W. Dean Wallace, Bita V. Naini. Practical Atlas of Transplant Pathology. Springer. Pág. 79-110
9. Collins AB¹, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB, Colvin RB. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. J Am Soc Nephrol. 1999 Oct;10.
10. Candice Roufousse, MD, PhD,1,2 Naomi Simmonds, MD,3 Marian Clahsen-van Groningen, MD, PhD,4 Mark Haas, MD, PhD,5 Kammi J. Henriksen, MD,6 Catherine Horsfield, MD,3 Alexandre Loupy, MD,7 Michael Mengel, MD,8 Agnieszka Perkowska-Ptasińska, MD,9 Marion Rabant, MD, PhD,10
A 2018 REFERENCE GUIDE TO THE BANFF CLASSIFICATION OF RENAL ALLOGRAFT PATHOLOGY.
11. Boletín estadístico-informativo Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA).
Periodo: Enero-Diciembre 2019.

12. The Banff 2019 Kidney Meeting Report (i): Updates and clarification of criteria for T cell- and antibody-mediated rejection. Alexandre Loupy, et al. *Am J Transplant.* 2020;20:2318-2331.
13. Jeong HJ. Diagnosis of renal transplant rejection: Banff classification and beyond. *Kidney Res Clin Pract.* 2020 Mar 31;39(1):17-31. doi: 10.23876/j.krcp.20.003. PMID: 32164120; PMCID: PMC7105630.
14. The renal allograft biopsy. ROBERT B. COLVIN. *Kidney International*, Vol. 50 (1996), pp. 1069—1082
15. Papel del linfocito B en el rechazo crónico del trasplante. *John Fredy Nieto Ríos¹, Juan David Ramírez Barrera², Cristiam Mauricio Álvarez³, Luis Fernando García⁴.* Módulo 5 (Inmunología), número 10. Editora Médica Colombiana S.A., 2010©.
16. Rechazo en pacientes con trasplante renal. Germán Gamarra, Jaime Gómez. *Acta Médica Colombiana* Vol. 16. 1991.
17. Rao KV. Mechanism, pathophysiology, diagnosis, and management of renal transplant rejection. *Med Clin North Am.* 1990;74:1039 - 57.

18. Mason DW, Morris PJ. Effector mechanisms in allograft rejection. *Annu Rev Immunol.* 1986;4:119-45. doi: 10.1146/annurev.iy.04.040186.001003. PMID: 3518743.
19. Antoine Sicard, Vannary Meas-Yedid, Maud Rabeyrin, Alice Koenig, Stephanie Ducreux, Frederique Dijoud, Valerie Hervieu, Lionel Badet, Emmanuel Morelon, Jean Christophe Olivo-Marin, Valerie Dubois, Olivier Thauinat. Computer-assisted topological analysis of renal allograft inflammation adds to risk evaluation at diagnosis of humoral rejection. *Kidney International.* Volume 92, Issue 1, 2017, Pages 214-226.
20. De León BB. Biopsia renal. *Acta Pediatr Mex* 2009;30(1):36-53. La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica
21. Colvin R.B. Pathology of renal allografts. *Diagnostic Immunopathology.* Raven, New York 1995: 389
22. Delaney V., Ling B.N., Campbell W.G., Bourke J.E., Fekete P.S., O'Brien III., D.P., Taylor A.T., Whelchel J.D. Comparison of fine-needle aspiration biopsy, Doppler ultrasound, and radionuclide scintigraphy in the diagnosis of acute allograft dysfunction in renal transplant recipients: sensitivity, specificity, and cost analysis. *Nephron.* 1993; 63: 263

23. Kiss D., Landman J., Mihatsch M., Huser B., Brunner F., Theil G. Risks and benefits of graft biopsy in renal transplantation under cyclosporin-A. *Clin Nephrol.* 1992; 38: 132
24. Matas A.J., Tellis V.A., Sablay L., Quinn T., Soberman R., Veith F.J. The value of needle renal allograft biopsy. III. A prospective study. *Surgery.* 1985; 98: 922
25. Wilczek H. Percutaneous needle biopsy of the renal allograft. A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation.* 1990; 50: 790
26. Hanas E., Larsson E., Fellstrom B., Lindgren P.G., Andersson T., Busch C., Frodin L., Wahlberg J., Tufveson G. Safety aspects and diagnostic findings of serial renal allograft biopsies, obtained by an automatic technique with a midsize needle. *Scand J Urol Nephrol.* 1992; 26: 413
27. Hamburger J. A reappraisal of the concept of organ "rejection", based on the study of homotransplanted kidneys. *Transplantation.* 1967; 37: 564
28. Solez K., Axelsen R.A., Benediktsson H., et al. International standardization of nomenclature and criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993; 44: 411

29. Ito H., Adachi H., Taniyama K., Fukuda Y., Dohi K. Telepathology is available for transplantation-pathology: experience in Japan using an integrated, low-cost, and high-quality system. *Mod Pathol.* 1994; 7: 801
30. Cohen A.H., Gonzalez S., Nast C.C., Wilkinson A., Danovitch G.M. Frozen-section analysis of allograft renal biopsy specimens. Reliable histopathologic data for rapid decision making. *Arch Pathol Lab Med.* 1991; 115: 386
31. Curschellas E., Landmann J., Durig M., Huser B., Kyo M., Basler V., Thiel G., Mihatsch M.J. Morphologic findings in "zero-hour" biopsies of renal transplants. *Clin Nephrol.* 1991; 36: 215
32. Taub H.C., Greenstein S.M., Lerner S.E., Schechner R., Tellis V.A. Reassessment of the value of post-vascularization biopsy performed at renal transplantation: the effects of arteriosclerosis. *J Urol.* 1994; 151: 575
33. Gaber L.W., Moore L.W., Alloway R.R., Amini M.M., Vern S.R., Gaber A.O. Glomerulosclerosis as a determinant of post transplant function of older donor renal allografts. *Transplantation.* 1995; 60: 334-339
34. Gaber L.W., Gaber A.O., Tolley E.A., Hathaway D.K. Prediction by post-revascularization biopsies of cadaveric kidney allografts of rejection, graft loss, and preservation nephropathy. *Transplantation.* 1992; 53: 1219

35. Sturgill B.C., Lobo P.I., Bolton W.K., Cold-reacting IgM antibody-induced renal allograft failure: Similarity to hyperacute rejection. *Nephron*. 1984; 36: 125
36. Halloran P.F., Schlaut J., Solez K., Srinivasa N.S. The significance of the anti-class I response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with anti-class I-like antibody. *Transplantation*. 1992; 53: 550
37. Salmela K.T., von Willebrand E.O., Kyllonen L.E.J., Eklund B.H., Hockerstedt K.A., Isoniemi H.M., Krogerus L., Taskinen E., Ahonen P.J. Acute vascular rejection in renal transplantation-diagnosis and outcome. *Transplantation*. 1992; 54: 858
38. Matas A.J., Sibley R., Mauer M., Sutherland D.E., Simmons R.L., Najarian J.S. A retrospective study of biopsies performed during putative rejection episodes. *Transplantation*. 1983; 22: 420
39. Banfi G., Imbasciati E., Tarantino A., Ponticelli C. Prognostic value of renal biopsy in acute rejection of kidney transplantation. *Nephron*. 1981; 28: 222
40. Sanfilippo F., Kolbeck P.C., Vaughn W.K., Bollinger R.R. Renal allograft cell infiltrates associated with irreversible rejection. *Transplantation*. 1985; 40: 679

41. Tuazon T.V., Schneeberger E.E., Bhan A.K., McCluskey R.T., Cosimi A.B., Schooley R.T., Rubin R.H., Colvin R.B. Mononuclear cells in acute allograft glomerulopathy. *Am J Pathol.* 1987; 129: 119
42. Hancock W.W., Atkins R.C. Immunohistological analysis of sequential renal biopsies from patients with acute renal rejection. *J Immunol.* 1985; 136: 2416
43. Akbar A.N., Amlot P.L., Timms A., Lombardi G., Lechler R., Janossy G. The development of primed/memory CD8⁺ lymphocytes in vitro and in rejecting kidneys after transplantation. *Clin Exp Immunol.* 1990; 81: 225
44. Matsuno T., Sakagami K., Saito S., Naomoto Y., Okumura K., Orita K. Does perforin mediate the direct injury of renal allograft in acute rejection. *Transplant Proc.* 1993; 25: 879
45. Briscoe D.M., Pober J., Harmon W.E., Cotran R.S. Expression of vascular cell adhesion molecule-1 in human renal allografts. *J Am Soc Nephrol.* 1992; 3: 1180
46. Dooper I.M., Bogman M.J., Hoitsma A.J., Maass C.N., Assmann K.J., Koene R.A. Detection of interstitial increase in macrophages, characteristic

of acute interstitial rejection, in routinely processed renal allograft biopsies using the monoclonal antibody KP1. *Transplant Int.* 1992; 5: 209

47. Colvin R.B., Dvorak H.F. Basophils and mast cells in renal allograft rejection. *Lancet.* 1974; 1: 212

48. Hongwei W., Nanra R.S., Stein A., Avis L., Price A., Hibberd A.D. Eosinophils in acute renal allograft rejection. *Transplant Immunol.* 1994; 2: 41

49. Gould V.E., Martinez L.V., Virtanen I., Sahlin K.M., Schwartz M.M. Differential distribution of tenascin and cellular fibronectins in acute and chronic renal allograft rejection. *Lab Invest.* 1992; 67: 71

50. Bishop GA, Hall BM, Waugh J, Philips J, Horvath JS, Duggin GG, Johnson JR, Sheil AG, Tiller DJ. Diagnosis of renal allograft rejection by analysis of fine-needle aspiration biopsy specimens with immunostains and simple cytology. *Lancet.* 1986 Sep 20;2(8508):645-50. doi: 10.1016/s0140-6736(86)90165-0. PMID: 2876134.

51. Herbertson B.M., Evans D.B., Calne R.Y., Banerjee A.K. Percutaneous needle biopsies of renal allografts: The relationship between morphological changes present in the biopsies and subsequent allograft function. *Histopathology.* 1977; 1: 161

52. Kasiske B.L., Kalil R.S., Lee H.S., Rao K.V. Histopathologic findings associated with a chronic, progressive decline in renal allograft function. *Kidney Int.* 1991; 40: 514
53. Kiaer H., Hansen H.E., Olsen S. The predictive value of percutaneous biopsies from human renal allografts with early impaired function. *Clin Nephrol.* 1980; 13: 58
54. Burdick J.F., Beschoner W.E., Smith W.J., McGraw D.J., Bender W.L., Williams G.M., Solez K. Characteristics of early routine renal allograft biopsies. *Transplantation.* 1984; 38: 679
55. Rush D.N., Henry S.F., Jeffery J.R., Schroeder T.J., Gough J. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation.* 1994; 57: 208
56. Rush D.N., Jeffery J.R., Gough I., Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation.* 1995; 59: 511
57. Isoniemi H.M., Krogerus L., von Willebrand E., Taskinen E., Ahonen J., Hayry P. Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney Int.* 1992; 41: 155

58. Habib R., Malheiros D., Charbit M., Gagnadoux M.F. Long term results in 70 pediatric renal transplants after more than 10 years. Histological study. *Ann Pediatr (Paris)*. 1991; 38: 419
59. Farnsworth A., Hall B.M., Ng A., Duggin G.G., Horvath J.S., Sheil A.G., Tiller D.J. Renal biopsy morphology in renal transplantation. *Am J Surg Pathol*. 1984; 8: 243
60. Sorof J.M., Vartanian R.K., Olson J.L., Tomlanovich S.J., Vincent F.G., Amend W.J.C. Histological concordance of paired renal allograft biopsy cores. *Transplantation*. 1995; 60: 1215-1219