





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA  
HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD DE NEFROLOGÍA

**MEDICIÓN DE MICROPARTÍCULAS EN PLASMA Y ORINA DURANTE  
EPISODIOS DE DAÑO RENAL AGUDO EN PACIENTES TRASPLANTADOS**

**DR. MAURICIO ADRIÁN SALINAS RAMIREZ**

DIRECTOR CLÍNICO  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA Y NEFROLOGIA  
DR. JAIME ANTONIO BORJAS GARCIA

DIRECTOR METODOLÓGICO  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
DR. ROBERTO FIDENCIO GONZALEZ AMARO



SLP, SLP. FEBRERO 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

ESPECIALIDAD EN NEFROLOGÍA

TÍTULO DE TESIS

“MEDICIÓN DE MICROPARTÍCULAS EN PLASMA Y ORINA DURANTE  
EPISODIOS DE DAÑO RENAL AGUDO EN PACIENTES TRASPLANTADOS”

PRESENTA

DR. MAURICIO ADRIAN SALINAS RAMIREZ

Firmas

DIRECTOR Especialista en Medicina interna y Nefrología Dr. Jaime Antonio Borjas García	
CO-DIRECTOR Postdoctorado en Ciencias Biomédicas Dr. Roberto Fidencio González Amaro	
Sinodales	
Especialista en Medicina Interna y Nefrología Dr. Francisco Aranda Verástegui	
Especialista en Medicina Interna y Nefrología Dr. Alejandro Chevaile Ramos	
Especialista en Medicina Interna y Nefrología Dr. Francisco Gerardo Alfaro Abúndiz	
<b>M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal</b> Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	<b>Dr. Francisco Gerardo Alfaro Abúndiz</b> Coordinador de la Especialidad en Nefrología

## RESUMEN

Las micropartículas son una población heterogénea de vesículas que miden entre 100 y 1000 nanómetros de diámetro, la generación ocurre durante diferentes procesos biológicos. La disfunción endotelial en pacientes en diálisis mejora una vez ocurre el trasplante, esto debido al mejoramiento de diversos factores de riesgo cardiovascular como anemia, sobrecarga de volumen, toxinas urémicas y estrés oxidativo.

La lesión renal aguda está ligada a un aumento significativo de morbimortalidad. Lamentablemente la creatinina sérica no se eleva de forma temprana para poder ser empleada como biomarcador ideal. El abordaje actual para el diagnóstico de esta complicación y el diferencial de otras entidades está basado en la realización de biopsia renal. Contar con herramientas de diagnóstico no invasivas para evaluar daño renal sería útil para guiar acciones terapéuticas efectivas.

Objetivo: Medir los niveles de micropartículas derivadas de leucocitos, plaquetas y endotelio en sangre y orina durante eventos de lesión renal aguda, en pacientes con trasplante renal.

Sujetos y Métodos. Estudio piloto. Pacientes con ERC en estadio KDIGO 5 y edades entre 18 y 70 años sometidos a trasplante renal de donador vivo o fallecido en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", durante 2017 al 31 de diciembre del 2020. Toma de muestra de sangre y orina previo al trasplante, a las 3 semanas, 3 meses y durante eventos de lesión renal aguda para la medición por citometría de flujo de micropartículas (CD3<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD41a<sup>+</sup>, CD62e<sup>+</sup>, CD144<sup>+</sup>).

Resultados: Durante los eventos de lesión renal se obtuvo elevación de micropartículas plasmáticas derivadas de linfocitos B (CD19<sup>+</sup>) (p 0.0388), así como elevación de micropartículas urinarias derivadas de linfocitos B (CD3<sup>+</sup>) (p 0.0435) y T (CD19<sup>+</sup>) (p 0.0075) y plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) (p 0.0323) con valores estadísticamente significativos.

Conclusiones: En pacientes receptores de trasplante renal con disfunción aguda del injerto, se demostró, con valores estadísticamente significativos, la elevación de micropartículas en orina derivadas de linfocitos B y T, y plaquetas. Este estudio piloto abre la oportunidad de búsqueda de un nuevo biomarcador temprano de daño renal intrínseco.



## DEDICATORIAS

“Dondequiera que el arte de la medicina es amado, también hay un amor a la humanidad”.  
“Hipócrates”

La vereda que hemos caminado a lo largo de estos años en el arte que conlleva ser médico, me ha traído tantas enseñanzas, experiencias y, sobre todo, una calidad humana, que me ha mostrado los diferentes matices que experimenta el hombre en la salud y en la enfermedad; puedo decir que no solo he aprendido a ser médico, he aprendido a vivir, a ser más humano cada día por el resto de mi existencia.

A mis padres, quiero dedicar estas palabras, por su incesante apoyo incondicional, por el amor que me han dado todos estos años, por sus palabras de aliento a seguir adelante, a pesar de todos los infortunios que atravesamos para conseguir portar con orgullo una bata blanca, y tener la honra de ser llamados médicos. Puedo decir con orgullo que todos estos logros no serían posibles, sin la dicha de tener los padres que me prestó Dios para ser mejor cada día. Gracias Mauricio y Eloísa, gracias mamá y papá por todos los logros juntos.

A mis hermanas por ser mis entrañables compañeras de vida, mis confidentes y mejores amigas, por el apoyo que han mostrado para que logremos todos los objetivos que nos hemos propuesto, a pesar de las dificultades que hemos tenido, de las alegrías y las tristezas que hemos compartido; es para mí un honor decir que no solo tengo hermanas, tengo dos ángeles que me cuidaran por siempre.

A mi pareja, por caminar y recorrer juntos este largo camino del arte de convertirse en médicos; por ser mi apoyo, mi fuerza y mi luz en todos los obstáculos que se presentan día con día; por ser mi compañera, mi amiga, mi confidente, y sobre todo por todo el amor y comprensión que me das en todo momento. Gracias Lucía Ramos por este y muchos mas logros juntos que nos falta por compartir.



A mis maestros, por darme la oportunidad de formar parte de las filas de sus alumnos, por las enseñanzas no solo académicas sino de vida, por buscar que lograra exponer todo mi potencial, por convertirme en el subespecialista que soy y lo que podría llegar a ser. Sin todas esas vivencias no podría ser el profesionista y ser humano que soy. Gracias Dr. Jaime Borjas García, Dr. Gerardo Alfaro Abundiz, Dr. Francisco Aranda Verastegui, Dr. Alejandro Chevaile Ramos. Los tendré presentes y en todo momento en cada uno de los retos diagnósticos que tenga día con día, en el maravilloso estilo de vida que conlleva el ser nefrólogo.

A mis compañeros por una amistad que durará toda la vida, por tantas experiencias y vivencias juntos, por el apoyo durante todos estos años, por tantas alegrías, por los buenos ratos y por esta vida que decidimos tomar. Gracias Gabriela Castaño y Emmanuel Medina, por esta gran familia que supimos formar a lo largo de estos tres años de una de las mejores experiencias de mi vida, convertirme en nefrólogo.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	I
DEDICATORIAS .....	II
ANTECEDENTES. ....	1
JUSTIFICACIÓN. ....	10
HIPÓTESIS. ....	11
OBJETIVOS. ....	12
SUJETOS Y MÉTODOS. ....	13
ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....	18
ASPECTOS ÉTICOS. ....	19
RESULTADOS. ....	20
DISCUSIÓN. ....	50
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN. ....	53
CONCLUSIONES. ....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	55
ANEXOS. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Marcadores de superficie asociados a origen celular .....	1
Tabla 2. Variables del estudio .....	2
Tabla 3. Características demográficas de los receptores de trasplante renal .....	21
Tabla 4. Estadística de variables continuas (edad, tiempo en TRR, creatinina preTR) .....	22
Tabla 5. Estadística de variables continuas (creatinina sérica a las 3s, 3m y en LRA) .....	22
Tabla 6. Causa de disfunción aguda del injerto en trasplante renal .....	22
Tabla 7. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3+) .....	23
Tabla 8. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14+) .....	24
Tabla 9. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19+) .....	25
Tabla 10. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a+) .....	26
Tabla 11. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD62e+) .....	27
Tabla 12. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD144+) .....	28
Tabla 13. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3+) .....	30
Tabla 14. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) .....	31
Tabla 15. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) .....	32
Tabla 16. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) .....	33
Tabla 17. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e+ y CD144+) .....	34
Tabla 18. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T en LRA (CD3+) .....	36
Tabla 19. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos en LRA (CD14+) .....	37
Tabla 20. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B en LRA (CD19+) .....	38
Tabla 21. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas en LRA (CD41a+) .....	39
Tabla 22. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE en LRA (CD62e+) .....	40
Tabla 23. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE en LRA (CD144+) .....	41
Tabla 24. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3+) en LRA .....	42
Tabla 25. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) en LRA .....	43
Tabla 26. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) en LRA .....	44
Tabla 27. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) en LRA .....	45
Tabla 28. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e+ y CD144+) en LRA .....	46

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3+) .....	24
Gráfica 2. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14+) .....	25
Gráfica 3. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19+) .....	26
Gráfica 4. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a+) .....	27
Gráfica 5. Niveles de micropartículas plasmáticas en células endoteliales (CD62e+) .....	28
Gráfica 6. Niveles de micropartículas plasmáticas en células endoteliales (CD144+) .....	29
Gráfica 7. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3+) .....	30
Gráfica 8. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) .....	31
Gráfica 9. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) .....	32
Gráfica 10. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) .....	33
Gráfica 11. Niveles de micropartículas urinarias en células endoteliales (CD62e+) .....	34
Gráfica 12. Niveles de micropartículas urinarias en células endoteliales (CD144+) .....	35
Gráfica 13. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3+) en LRA .....	36
Gráfica 14. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14+) en LRA .....	37
Gráfica 15. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19+) en LRA .....	38
Gráfica 16. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a+) en LRA .....	39
Gráfica 17. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD62e+) en LRA .....	40
Gráfica 18. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD144+) en LRA .....	41
Gráfica 19. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3+) en LRA .....	43
Gráfica 20. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) en LRA .....	44
Gráfica 21. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) en LRA .....	45
Gráfica 22. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) en LRA .....	46
Gráfica 23. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e+) en LRA .....	47
Gráfica 24. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD144+) en LRA .....	47
Gráfica 25. Correlación lineal de CD3+ urinario y creatinina sérica en lesión renal .....	48
Gráfica 26. Correlación lineal de CD19+ urinario y creatinina sérica en lesión renal .....	48
Gráfica 27. Correlación lineal de CD41a+ urinario y creatinina sérica en lesión renal .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- DNA: Ácido desoxirribonucleico
- ERC: Enfermedad renal crónica
- FC: Ficoeritrina
- FITC: Isotiocianato de fluoresceína
- GNM FyS: Glomerulonefritis focal y segmentaria
- HLA: Complejo mayor de histocompatibilidad
- HCIMP: Hospital central Ignacio Morones Prieto
- KDIGO: Consorcio para la mejoría en los desenlaces globales en enfermedad renal crónica
- mRNA: Ácido ribonucleico mensajero
- NOM: Norma oficial mexicana
- PBS: Tampón fosfato salino
- TFG: Tasa de filtración glomerular

## ANTECEDENTES.

### GENERALIDADES

La búsqueda de marcadores confiables y clínicamente significativos, capaces de predecir y detectar rechazo del injerto en pacientes trasplantados es motivo de investigación reciente. Debido a que el estudio directo del funcionamiento biológico de las células es invasivo, costoso e impráctico, los biomarcadores parecen ser una alternativa confiable para identificar eventos patológicos, evaluar el riesgo de enfermedad y la respuesta a tratamientos farmacológicos (1).

Las micropartículas son una población heterogénea de vesículas que miden entre 100 y 1000 nanómetros de diámetro, la generación ocurre durante diferentes procesos biológicos en los que se incluyen activación celular, estrés, envejecimiento y apoptosis. Estas vesículas pueden ser detectadas en diferentes fluidos corporales incluyendo plasma, líquido sinovial y orina. Aunque las células que las generan son diversas, algunas de las más estudiadas son neutrófilos, células endoteliales, células dendríticas y plaquetas.

Las micropartículas contienen receptores de superficie, proteínas del citosol, ADN, mRNA y micro RNA derivados de la célula que les dio origen, lo que permite identificarlas (ver tabla 1).

<b>Tabla 1: Marcadores de superficie asociados a origen celular</b>	
<b>Linfocitos T</b>	<b>Anexina V+CD3+</b>
<b>Linfocitos B</b>	<b>Anexina V+CD19+</b>
<b>Monocitos</b>	<b>Anexina V+CD14+</b>
<b>Plaquetas</b>	<b>Anexina V+CD41a+</b>
<b>Endotelio</b>	<b>Anexina V+CD62E+CD144+</b>

Recientemente, se ha demostrado que estas micropartículas tienen funciones biológicas y son importantes en la comunicación intercelular, capaces de transferir moléculas bioactivas y modular diferentes fenómenos biológicos como la respuesta inmune, proliferación celular, angiogénesis y coagulación. Aunque las micropartículas pueden ser detectadas en población sana, se ha demostrado su incremento en situaciones de estrés y de inflamación.

Las micropartículas endoteliales se desprenden del endotelio durante procesos de activación o apoptosis y son consideradas marcadores de disfunción endotelial. Las micropartículas derivadas de leucocitos son capaces de inducir in vitro liberación de citocinas proinflamatorias con consecuencias funcionales relacionadas con amplificación y modulación de la respuesta inmune (2).

### **EL PROCESO DE FORMACIÓN DE MICROPARTÍCULAS**

La activación celular ocasiona liberación de calcio intracelular desde el retículo endoplásmico, el aumento de calcio en el citosol desencadena la liberación en el citoplasma de calpaina, responsable de la disrupción de los filamentos del citoesqueleto. Finalmente, estos cambios membranales generan la formación de deformidades en la membrana celular que culminan en la liberación de las micropartículas (3-4).

En apoptosis la célula sufre contracción, disrupción del contenido nuclear, fragmentación del DNA y liberación acelerada de micropartículas. La formación de micropartículas resulta de la contracción del citoesqueleto formado por actina-miosina mediado por caspasa 3. Las características de los lípidos y de las proteínas en la superficie de las micropartículas liberadas tienen relevancia biológica y clínica, por ejemplo, la expresión de fosfatidil serina provee un sitio de fijación para factores de la coagulación, dando lugar a efectos pro coagulantes (5-6).

## **MICROPARTÍCULAS ENDOTELIALES EN ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA**

La activación del endotelio en el enfermo renal crónico esta mediada por diversos estímulos patológicos como: citocinas inflamatorias, factores de crecimiento, agentes infecciosos, lipoproteínas, estrés oxidativo y toxinas urémicas. Este conjunto de fenómenos es causal de disfunción endotelial y liberación de micropartículas a la circulación sistémica.

El estudio de disfunción endotelial en el enfermo renal crónico es muy importante pues es causal de aterosclerosis acelerada y enfermedad cardiovascular, principal factor de mortalidad en esta población. El deterioro de la función endotelial ocurre en los primeros estadios de la enfermedad renal, cuando la tasa de filtrado glomerular disminuye y los niveles de tensión arterial se incrementan. La presencia de disfunción endotelial es por lo tanto un marcador adverso de riesgo cardiovascular (7).

En pacientes con enfermedad renal crónica, los niveles de micropartículas endoteliales pueden proveer información de utilidad acerca del funcionamiento endotelial, a su vez los niveles incrementados de micropartículas endoteliales también tienen efectos deletéreos al acelerar la disfunción vascular preexistente. Se ha demostrado en enfermos renales crónicos que las micropartículas de origen endotelial interfieren en la vasodilatación mediada por óxido nítrico en las células endoteliales vasculares, lo que sugiere un papel de las micropartículas endoteliales en mecanismos de disfunción endotelial (8).

El índice de grosor intima-media en la carótida, así como la velocidad de la onda de pulso en la arteria carótida y femoral son indicadores de aterosclerosis temprana. El incremento en la circulación de micropartículas endoteliales está estrechamente relacionado con la aparición de aterosclerosis y rigidez capilar. Ambos, el índice de grosor íntima-media y la velocidad de onda de pulso se incrementaron en una población de pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica y correlacionaron con niveles elevados de micropartículas endoteliales CD144+ y CD146+ (9).

Faure et al midieron los niveles de micropartículas endoteliales en enfermos renales crónicos pre diálisis y en hemodiálisis, adicionalmente examinaron la capacidad de las toxinas urémicas de liberar micropartículas en cultivos de células endoteliales de vena umbilical de humano. En este estudio demostraron que los niveles de micropartículas endoteliales CD 144+ y CD 146+ pre diálisis y en hemodiálisis fueron superiores al compararlos con controles sanos. También encontraron que las toxinas urémicas indujeron de manera significativa la liberación de micropartículas endoteliales. Adicionalmente describieron que los niveles de las micropartículas no disminuyeron después de hemodiálisis (10).

La relación de las toxinas urémicas indoxil sulfato y p-cresol en la producción y liberación de micropartículas también ha sido descrita en estudios in vitro de cultivos de células endoteliales. Indoxil sulfato y p-cresol inducen la producción de micropartículas mediante la interacción con el citoesqueleto celular de la célula endotelial (10).

### **MICROPARTÍCULAS ENDOTELIALES EN TRASPLANTE RENAL**

La sobrevivencia de los pacientes post trasplantados renales supera a la de aquellos que permanecen en diálisis. La disfunción endotelial observada en pacientes en diálisis mejora una vez ocurre el trasplante, esto debido al mejoramiento de diversos factores de riesgo cardiovascular como anemia, sobrecarga de volumen, toxinas urémicas y estrés oxidativo. La reducción de factores de riesgo cardiovascular y la recuperación de la función renal en pacientes trasplantados se postulan como factores que disminuyen la activación celular y la liberación de micropartículas endoteliales (11).

Para comprobar estas observaciones, se realizó un estudio en una población de 213 pacientes sometidos a trasplante renal y 14 pacientes con trasplante páncreas-riñón. Se midieron los niveles séricos de micropartículas endoteliales antes y de

manera periódica a los días 7, 14 y 21 post trasplante y se compararon con los niveles séricos de los donadores sanos. En este estudio se observó que los pacientes con diabetes mellitus, uropatía obstructiva y lesión autoinmune como causa de la enfermedad renal crónica mostraron disminución en los niveles de micropartículas endoteliales medidas en sangre 2 semanas posteriores al implante del injerto. Aunque las mediciones de este estudio no se realizaron a un intervalo mayor a 2 meses de tiempo, estudios en poblaciones menores de pacientes con un año de seguimiento han mostrado tendencias similares (12).

El rechazo humoral, celular o mixto es una de las principales causas de la pérdida del injerto renal. Es bien conocido que el endotelio es el principal blanco de ataque inmunológico que debe ser detectado de manera temprana para establecer un tratamiento efectivo y limitar el daño. Desafortunadamente la creatinina sérica es un biomarcador no específico y la biopsia renal es un método diagnóstico invasivo y costoso (13).

Qamri et al midieron los niveles de micropartículas endoteliales en plasma sanguíneo pre trasplante y de manera periódica post trasplante renal, los días 7, 14, 21 y 2 meses después. En este estudio demostraron que los niveles disminuyeron significativamente posterior al trasplante renal. En el seguimiento posterior observaron que el incremento de los niveles de micropartículas endoteliales séricas se asoció a rechazo. Cuando clasificaron los pacientes con tinción capilar peritubular C4D positiva observaron que los niveles de micropartículas endoteliales disminuyeron más lentamente posterior al tratamiento, posiblemente por lesión endotelial mediada por anticuerpos anti-HLA. Con los resultados de este estudio se puede deducir que la medición de los niveles de micropartículas endoteliales en pacientes trasplantados pudiera proveer información valiosa sobre el endotelio vascular ante la presencia de un evento de rechazo (13).

## **MICROPARTÍCULAS EN ORINA**

La presencia de micropartículas se ha identificado en plasma y diversos fluidos corporales, en orina se consideran son originadas de células que componen la nefrona, con una contribución mínima de las células que revisten el epitelio urinario bajo.

El análisis proteómico de las micropartículas urinarias ha demostrado proteínas membranales y del citosol, derivados de células epiteliales tubulares de distintos segmentos de la nefrona, así como de podocitos. Dado que las micropartículas están compuestas de proteínas y ácidos nucleicos que posiblemente tengan actividades biológicas y funcionen como mensajeras del estado fisiológico-patológico de las células que revisten la nefrona, pueden proveer información cualitativa y cuantitativa del funcionamiento renal.

Debido a que la orina es un fluido fácil de obtener y su recolección no implica métodos invasivos, el descubrimiento de las micropartículas ha abierto un nuevo campo de investigación. Las aplicaciones en el campo clínico son diversas incluyendo métodos de diagnóstico, pronóstico y biomarcadores para seguir la respuesta a diversos tratamientos en enfermedades tubulares y glomerulares <sup>(14)</sup>.

## **MICROPARTÍCULAS EN ORINA PARA EL ESTUDIO DE LESIÓN RENAL AGUDA**

La lesión renal aguda es una entidad frecuente en pacientes hospitalizados, cuando ocurre está ligada a un aumento significativo de morbimortalidad. Lamentablemente la creatinina sérica no se eleva de forma temprana para poder ser empleada como biomarcador ideal. En un estudio llevado a cabo en 68 pacientes en terapia intensiva, se empleó como biomarcador la búsqueda de micropartículas con expresión del intercambiador sodio hidrogeniones tipo 3 (NHE3). La presencia de estas micropartículas permitió diferenciar de manera más eficaz azoemia prerrenal, necrosis tubular aguda y otras causas de falla renal que el empleo de los índices urinarios clásicos fracción excretada de sodio y urea <sup>(15)</sup>.



## **MICROPARTÍCULAS COMO BIOMARCADORES DE DAÑO EN TRASPLANTE RENAL**

Después del trasplante renal de donador fallecido, el daño por isquemia reperusión del injerto ocasiona necrosis tubular aguda y retardo en la función del injerto. Esta complicación se presenta hasta en el 25% de los receptores de trasplante renal. El abordaje actual para el diagnóstico de esta complicación y el diferencial de otras entidades potencialmente severas como rechazo, está basado en la realización de biopsia renal. Contar con herramientas de diagnóstico no invasivas para evaluar daño renal y la capacidad de regeneración sería útil para guiar acciones terapéuticas efectivas (17).

En el riñón humano se han identificado mecanismos intrínsecos de reparación y regeneración tisular que se activan después de lesión isquémica, inflamatoria y tóxica. Evidencia reciente ha mostrado la expresión de células progenitoras CD133+ en diferentes segmentos de la nefrona localizadas en cápsula de Bowman, túbulo proximal y papila medular. Adicionalmente se ha demostrado que el número de células CD133+ se incrementan en la corteza renal posterior a modelos de lesión renal aguda, demostrando su papel en reparación tisular después de lesión. En pacientes con retardo en la función del injerto se ha demostrado también incremento de células CD133+ en túbulo renal en respuesta a lesión por isquemia (18).

Debido a que células CD133+ residentes en la nefrona hipotéticamente pudieran liberar micropartículas CD133+, y la presencia de estas micropartículas en la orina proveer información sobre el estado fisiopatológico del riñón o su capacidad de regeneración, se realizó un estudio para caracterizar las micropartículas urinarias CD133+ en sujetos sanos, en pacientes con ERC-5 con diuresis residual y por último en pacientes trasplantados renales con función inmediata del injerto y con retardo en la función.

En este estudio se demostró la presencia de micropartículas CD133+ en orina de pacientes sanos, no así en pacientes con diuresis residual en ERC-5 en quienes se piensa que el grado de desgaste orgánico terminó con la población de las células

CD133+. Para demostrar que estas variaciones no se producen por una menor producción del total de micropartículas urinarias, se realizó un control con medición de micropartículas CD24+ encontrando niveles similares en ambos grupos. Se describió también que la concentración urinaria y la tasa de filtrado glomerular no interfirieron con la producción y recuperación en orina de las micropartículas.

En pacientes trasplantados los niveles se midieron a los días 1 y 7 y se demostró la presencia de micropartículas CD133+ desde el primer día del evento quirúrgico. Para demostrar el origen de estas micropartículas del injerto trasplantado se sometieron a tinción con anticuerpos anti HLA clase I para reconocer antígenos específicos del donador.

Retrospectivamente los pacientes trasplantados fueron divididos en dos grupos, función inmediata del injerto (creatinina <3mg/dL al día 3) vs retardo en la función del injerto (creatinina >3mg/dL al día 3). Al día 1 los niveles de las micropartículas CD133+ fueron menores en el grupo con retardo en la función del injerto, aunque no de manera significativa. Al día 7 el incremento en los niveles de las micropartículas CD133+ fue significativo solo en el grupo con retardo en la función del injerto. Estos hallazgos orientan a pensar que las micropartículas CD133+ reflejan la actividad de las células progenitoras CD133+ en el riñón y su participación en la regeneración de tejido posterior a daño por isquemia-reperusión <sup>(19)</sup>.

Finalmente, en un ensayo realizado en 55 pacientes con artritis reumatoide y 14 pacientes con lupus eritematoso sistémico, se analizó la proporción de diferentes micropartículas recolectadas en plasma-orina y se estudió su relación con actividad de la enfermedad y respuesta al tratamiento y se compararon con 20 sujetos sanos.

En este estudio se detectó que las proporciones de distintos tipos de micropartículas anexina V+ CD3+, CD14+, CD19+, CD41+ y CD62E+ en plasma y CD14+, CD3+ y CD19+ en orina se encontraban incrementadas en pacientes con artritis reumatoide y un índice de actividad DAS28 >5.1. Los niveles disminuyeron significativamente 4



semanas posteriores al tratamiento inmunosupresor lo que sugiere que estos biomarcadores pueden resultar útiles para monitorizar la actividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Como hallazgo interesante en este estudio, se encontraron micropartículas derivadas de leucocitos en orina tanto de los sujetos sanos como de los pacientes con artritis reumatoide y lupus. Aunque no se apreciaron diferencias significativas en los niveles de estas micropartículas entre sujetos sanos y con artritis reumatoide y lupus, si se apreciaron diferencias significativas en los niveles de las micropartículas en orina CD14+, CD3+ y CD19+ en los pacientes con artritis reumatoide con índice de actividad alto y bajo (20).

## **JUSTIFICACIÓN.**

Las células endoteliales y los leucocitos son dos protagonistas importantes en la patogénesis de la disfunción y rechazo del injerto en pacientes con trasplante renal. El reconocimiento del antígeno y posteriormente la activación leucocitaria son eventos obligados en la fisiopatogenia del rechazo del injerto. Adicionalmente, el endotelio es uno de los principales blancos de ataque por el sistema inmune, sobre todo si es del tipo humoral.

Las micropartículas son vesículas conformadas por fragmentos de membranas y lipoproteínas idénticas a las de las células que les dieron origen. La producción de micropartículas se incrementa durante procesos de activación, lesión y estrés. Distintos trabajos han mostrado la utilidad de micropartículas derivadas de leucocitos como marcador de actividad en enfermedades autoinmunes, así como también de micropartículas derivadas de endotelio asociadas a daño y disfunción endotelial.

Durante el 2018, se realizaron en este hospital 54 trasplantes renales, 49 de donador fallecido y 5 de donador vivo relacionado. En el estudio realizado en el área de trasplantes en el año 2017, los resultados obtenidos fueron prometedores para el posible uso como biomarcador de disfunción del injerto de las micropartículas derivadas de leucocitos y células endoteliales, sin embargo, no se alcanzó el tamaño de la muestra.

El presente trabajo completó y reforzó lo anteriormente descrito, ya que, al agrupar a todos los pacientes con daño renal intrínseco por rechazo celular-humoral y necrosis tubular aguda, presentaron elevación de micropartículas de leucocitos en orina. Dadas las observaciones que sugieren que el análisis de micropartículas en orina puede convertirse en un biomarcador para el estudio del paciente trasplantado con deterioro en la función del injerto, en pacientes con sospecha de rechazo agudo.



## **HIPÓTESIS.**

Las micropartículas derivadas de leucocitos y endotelio obtenidas en sangre y orina se incrementan durante lesión renal aguda en el paciente con trasplante renal.



## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

- ✓ Medir los niveles de micropartículas derivadas de leucocitos, plaquetas y endotelio en sangre y orina durante eventos de lesión renal aguda, en pacientes con trasplante renal.

### **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- ✓ Evaluar la ocurrencia de lesión renal aguda en una cohorte de pacientes post trasplantados.
- ✓ Categorizar a los pacientes con lesión renal aguda de acuerdo a la etiología causal.
- ✓ Establecer asociación entre proporción y elevación de micropartículas en orina/suero y la ocurrencia de lesión renal por etiologías específicas.

## SUJETOS Y MÉTODOS.

- ✓ Diseño del estudio: Piloto.
- ✓ Lugar y duración: Pacientes atendidos en el servicio de trasplantes del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” durante 2017 al 31 de diciembre del 2020.
- ✓ Universo: Pacientes entre 18 y 70 años con diagnóstico de enfermedad renal crónica KDIGO estadio 5, trasplantados en el hospital central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.
- ✓ Unidad de observación: Pacientes adultos receptores de trasplante renal.

### CRITERIOS DE SELECCIÓN

- ✓ Criterios de inclusión: Pacientes adultos con diagnóstico de enfermedad renal crónica en estadio KDIGO 5 y edades entre 18 y 70 años sometidos a trasplante renal de donador vivo o fallecido en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

### VARIABLES DEL ESTUDIO (tabla 2)

Categorización de variables			
Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable
Edad	Tiempo que ha vivido un ser vivo.	Número de años cumplidos según fecha de nacimiento.	CUANTITATIVA
Sexo	Rasgo inherente de cada persona según sea masculino o femenino.	Sexo de asignación fenotípico.	NOMINAL DICOTÓMICA Con los valores: ✓ Masculino. ✓ Femenino.
Enfermedad Renal Crónica	Disminución de la función renal, expresada por una TFG <60 ml/min/1.73m <sup>2</sup> o como la presencia de daño renal (alteraciones histológicas, albúmina-	Disminución de la función renal, expresada por una TFG <60 ml/min/1.73m <sup>2</sup> o como la presencia de daño renal (alteraciones histológicas, albúmina-	NOMINAL Con los valores: ✓ Estadio 1. ≥ 90 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ✓ Estadio 2. 60-89 ml/min/1.73

	proteinuria, alteraciones del sedimento urinario o alteraciones en pruebas de imagen) de forma persistente durante al menos 3 meses.	proteinuria, alteraciones del sedimento urinario o alteraciones en pruebas de imagen) de forma persistente durante al menos 3 meses.	<p>m<sup>2</sup></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Estadio 3a. 45-59 ml/min/1.73 m<sup>2</sup></li> <li>✓ Estadio 3b. 30-44 ml/min/1.73 m<sup>2</sup></li> <li>✓ Estadio 4. 15-29 ml/min/1.73 m<sup>2</sup></li> <li>✓ Estadio 5. &lt;15 ml/min/1.73 m<sup>2</sup></li> </ul>
<b>Trasplante Renal (TR)</b>	Es el trasplante de un riñón en un paciente con enfermedad renal avanzada. Dependiendo de la fuente del órgano receptor, el trasplante de riñón es típicamente clasificado como de donante fallecido o como trasplante de donante vivo.	Es el trasplante de un riñón en un paciente con enfermedad renal avanzada. Dependiendo de la fuente del órgano receptor, el trasplante de riñón es típicamente clasificado como de donante fallecido o como trasplante de donante vivo	<p>NOMINAL DICOTÓMICA</p> <p>Con los valores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Donador fallecido.</li> <li>✓ Donador vivo.</li> </ul>
<b>Inducción pre-trasplante</b>	Es el tratamiento inmunosupresor a base de anticuerpos mono o policlonales dirigidos contra linfocitos o citocinas empleado en pacientes con riesgo inmunológico por historia de alosensibilización	Tratamiento inmunosupresor a base de anticuerpos mono o policlonales dirigidos contra linfocitos o citocinas empleado en pacientes con riesgo inmunológico por historia de alosensibilización	<p>NOMINAL DICOTÓMICA</p> <p>Con los valores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Timoglobulina</li> <li>✓ Basiliximab</li> </ul>
<b>Micropartículas</b>	Vesículas con tamaños entre 100 y 1000 nanómetros de diámetro, generadas de diversas estirpes celulares durante	Vesículas con tamaños entre 100 y 1000 nanómetros de diámetro, generadas de diversas estirpes celulares durante	<p>NOMINAL</p> <p>Con los valores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Micropartículas de linfocitos T</li> <li>✓ Micropartículas</li> </ul>

	procesos de activación celular, estrés, envejecimiento y apoptosis.	procesos de activación celular, estrés, envejecimiento y apoptosis.	de linfocitos B ✓ Micropartículas de monocitos ✓ Micropartículas de plaquetas ✓ Micropartículas del endotelio
<b>Lesión Renal Aguda</b>	Incremento en 1.5 o más veces la creatinina basal o absoluto $\geq 0.3\text{mg/dl}$ en un paciente con función renal previamente conocida y estable	Incremento en 1.5 o más veces la creatinina basal o absoluto $\geq 0.3\text{mg/dl}$ en un paciente con función renal previamente conocida y estable	NOMINAL DICOTÓMICA. Con los Valores: ✓ Presente. ✓ Ausente.

### ***Reclutamiento y seguimiento de pacientes***

Durante el operativo de trasplante renal, previo al evento quirúrgico se solicitó al receptor su participación, se explicó y entregó consentimiento informado y se solicitó su autorización. Durante la venopunción para la toma de laboratorios pre quirúrgicos se obtuvo de forma adicional 15ml de sangre venosa para el procesamiento de micropartículas pre trasplante. Al cumplirse 21 días del evento quirúrgico, se extrajeron 15ml de sangre venosa y 20ml de orina adicionales a la toma de exámenes de seguimiento del paciente trasplantado. Cuando no ocurrieron eventos de lesión renal aguda se extrajeron 15ml de sangre venosa y 20ml de orina al cumplirse 3 meses post trasplante (anexo 1).

### ***Toma de muestras durante eventos de lesión renal aguda***

En pacientes con criterios de lesión renal aguda, se extrajeron 15ml de sangre venosa y 20ml de orina adicionales a la toma de exámenes protocolizados del paciente con deterioro de la función del injerto. Los exámenes de sangre y orina fueron enviados y procesados inmediatamente después de su recolección en el laboratorio de inmunología (anexo 2).

### ***Aislamiento de micropartículas***

A partir de 15ml de sangre venosa periférica se obtuvo plasma libre de células por centrifugación a 1100rpm por 20min. El plasma libre de células se sometió a 4 centrifugaciones consecutivas (1 a 2500rpm/20 minutos, 2 a 2600rpm/20 minutos y 1 a 14,000 rpm/2min) con eliminación de una tercera parte del sobrenadante en las primeras tres centrifugaciones y eliminación total del sobrenadante de la cuarta. El pellet obtenido correspondiente a las micropartículas aisladas, fue re suspendido en buffer de unión a Anexina V. En el caso de las micropartículas provenientes de orina, se les pidió a los pacientes recolectar 20 ml de la primera orina de la mañana en los días antes señalados, el procedimiento a seguir fue el antes descrito.

### ***Análisis con citometría de flujo***

Las MP se marcaron con anexina V identificada con FITC más uno de los siguientes anticuerpos monoclonales marcados con PE, anti-CD3 (linfocitos T), -CD14 (monocitos), -CD19 (células B), -CD41a (plaquetas) y -CD62E (endoteliales), éste último también fue marcado con anti-CD144-APC (endoteliales), durante 30 minutos en oscuridad, pasado este tiempo se lavaron con buffer de unión a Anexina V o PBS y se analizaron en el citómetro Accuri, usando el software Accuri C6.

Para establecer los parámetros de tamaño de las micropartículas para ser analizadas, se utilizaron perlas de poliestireno de 0.2 y 1.0  $\mu\text{m}$  que se observaron en un dot-plot utilizando forward contra side-scatter. Se adquirió toda la muestra a velocidad lenta, del total de eventos registrados se identificaron como micropartículas de nuestro interés a las Anexina-V positivas, así como al anticuerpo correspondiente unido a PE y APC. Como control se utilizaron dos tubos con muestra sin marcar con anticuerpos con PE, pero uno solo si tuvo Anexina-V-FITC.

### ***Recolección de datos***

Para la recolección de datos durante el reclutamiento y seguimiento de los pacientes en la clínica se utilizó la hoja de Excel (anexo 3). Para el registro de los datos obtenidos del conteo de micropartículas por el citómetro de flujo se empleará la hora de recolección de datos (anexo 4).



## **ORGANIZACIÓN**

### **Recursos Humanos**

- ✓ Dr. Keisuke Enrique Miyahara Osuna (co-investigador): Estudio clínico y selección de los pacientes incluidos en el proyecto, seguimiento de la evolución de los pacientes trasplantados, evaluación diagnóstica de los pacientes trasplantados con criterios de lesión renal aguda, selección de los pacientes que requirieron ser muestreados en episodios de lesión renal aguda, obtención de las muestras clínicas correspondientes y elaboración del análisis e interpretación de los resultados.
- ✓ Dr. Mauricio Adrián Salinas Ramírez (tesista/co-investigador): Estudio clínico y selección de los pacientes incluidos en el proyecto, seguimiento de la evolución de los pacientes trasplantados, evaluación diagnóstica de los pacientes trasplantados con criterios de lesión renal aguda, selección de los pacientes que requirieron ser muestreados en episodios de lesión renal aguda, obtención de las muestras clínicas correspondientes y elaboración del análisis e interpretación de los resultados.
- ✓ M. en C. Norma Alejandra Mendoza Pérez: Recogida de muestras clínicas, aislamiento de micropartículas, marcaje de las mismas con anexina V y anticuerpos monoclonales, análisis multiparamétrico por citometría de flujo, análisis de resultados, elaboración de gráficas y elaboración del manuscrito.

### **Recursos materiales**

Computadora personal de los investigadores, material común de papelería, tubos de recolección de sangre, frascos de recolección de orina. Anticuerpos monoclonales marcados con PE: anti CD3, CD14, CD19, CD41a y CD62E (BD Biosciences, San José, California EEUA). Citómetro de flujo (Becton Dickinson, San José California EEUA) con software CellQuest (Becton Dickinson).

### **Recursos financieros**

Interno: Fondos propios del departamento de Inmunología de la facultad de Medicina-CICSaB, obtenidos por servicios externos.



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

- ✓ Tamaño de la muestra: Debido al diseño del estudio y con referencia en el trabajo de Browne <sup>(20)</sup>. Se calculó un tamaño de muestra de 30 pacientes.
- ✓ Se realizaron pruebas de normalidad por análisis de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene.
- ✓ En caso de cumplir con requisitos para prueba paramétrica se realizó un ANOVA de medidas repetidas o T de student pareada.
- ✓ Para el caso de un análisis no paramétrico, se realizó la prueba de Friedman o Wilcoxon.
- ✓ Se tomará como estadísticamente significativa una  $p < 0.05$ .

## **ASPECTOS ÉTICOS.**

Dado que es un estudio en el cual se obtuvo información sólo de muestras sanguíneas y de orina protocolizadas durante el estudio habitual del paciente, se consideró investigación con riesgo mínimo de acuerdo a lo establecido en la ley general de salud en materia de investigación para la salud título segundo, capítulo I, artículo 17. Los residuos generados del procesamiento de micropartículas fueron tratados y desechados de acuerdo a la NOM 087.

El estudio no violó los derechos de los pacientes, los exámenes realizados fueron los considerados por el médico tratante como los necesarios. Aunque se obtuvo acceso al expediente clínico del paciente, los investigadores se comprometieron a mantener la información personal de los pacientes de manera confidencial. Sólo la información en conjunto fue publicada. Sin embargo, siguiendo las recomendaciones de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, en el Reglamento de la Ley en Materia de Investigación para la Salud, Capítulo Único, Título Segundo, Artículos 13, 14, 16, 17, 20, 21 y 22; se sometió el protocolo para revisión por parte del Comité de Ética en Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” para obtener aprobación para su realización y número de registro. Por último, se solicitó la autorización del paciente mediante la firma de consentimiento informado.

En caso de aceptar participar en el estudio, se solicitó la firma de consentimiento informado (Anexo 3) a los pacientes para la obtención, resguardo, análisis y posible publicación de los datos de acuerdo a la ley de protección de datos personales en posesión de sujetos obligados.

La información obtenida se mantuvo resguardada y codificada. Para garantizar la confidencialidad de la información, los resultados fueron reportados en conjunto, de manera que no fue posible identificar individualmente cada uno de los casos. En caso necesario de requerir nueva firma de consentimiento informado, por actualización y cambio administrativo de presidente de comité de ética e investigación.

## RESULTADOS.

Ingresaron al estudio 28 pacientes, de los cuales 6 pacientes solo acudieron a la primera toma de la muestra y posteriormente decidieron no continuar por cambio a un hospital con seguridad social, un paciente se perdió durante el seguimiento por episodio de lesión renal aguda y atención en un hospital de seguridad social (ISSSTE), y, por último, un paciente presentó infarto agudo al miocardio y muerte en menos de 24 horas por motivos cardiovasculares, antes de completar el seguimiento.

Permanecieron en el estudio con todas las muestras completas y seguimiento a un año un total de 22 pacientes durante el tiempo de seguimiento de febrero de 2017 a diciembre de 2020. En total 12 pacientes (54.5%) presentaron evolución normal durante los primeros 3 meses y 10 pacientes (45.5%) cursaron con un evento de lesión renal aguda en el tiempo de seguimiento, solo 2 pacientes cursaron con un segundo evento de disfunción del injerto, siendo en total 12 eventos. Las características clínicas de la población se describen a continuación en la tabla 3.

La mayor parte de la población fueron hombres (81.8%) y en la mayoría no fue posible determinar la etiología de la enfermedad renal crónica (59.1%). Todos los pacientes contaban con el diagnóstico de hipertensión arterial sistémica. La modalidad de terapia de reemplazo renal más frecuente fue la hemodiálisis (68.2%). El tiempo en terapia sustitutiva, la edad en años al momento del trasplante y los valores de creatinina sérica pretrasplante se expresan en la tabla 4.

### Inmunosupresión

El esquema de inmunosupresión consistió en terapia de inducción con Timoglobulina a dosis de 1mg/kg/día por 3 dosis o Basiliximab a dosis de 20mg los días 0 y 4 de acuerdo al riesgo inmunológico determinado por el protocolo interno de tratamiento. Cuando no existió historia de alo sensibilización y el panel reactivo de anticuerpos fue menor al 20% se obvió el empleo de inducción.

Al iniciar la vía oral todos los pacientes recibieron tratamiento inmunosupresor de mantenimiento a base de tacrolimus, las metas de niveles séricos fueron de 8-10ng/ml los primeros 3 meses y 6-8ng/ml los meses subsecuentes, micofenolato de mofetilo 500mg cada 12 horas y esquema de esteroide 1gr de metilprednisolona en quirófano y prednisona 2mg/kg los días 1 y 2, 1.5mg/kg los días 3 y 4, 1mg/kg los días 5 y 6, 0.8mg/kg los días 7 y 8 y en dosis reducción 2.5 mg por semana hasta llegar a 10mg durante 6 meses, posteriormente se mantuvo en 5mg al día de forma subsecuente.

Tabla 3. Características demográficas de los receptores de trasplante renal		
Características		Número = 22 (%)
Género	Femenino	4 (18.2)
	Masculino	18 (81.8)
Causa de Enfermedad Renal Crónica	Enfermedad Renal por diabetes	4 (18.2)
	Glomeruloesclerosis focal y segmentaria	4 (18.2)
	Enfermedad Renal Poliquística (ERPA)	1 (4.5)
	Etiología no determinada	13 (59.1)
Modalidad de terapia de reemplazo renal	Sin terapia de reemplazo	2 (9.1)
	Hemodiálisis	15 (68.2)
	Diálisis Peritoneal	5 (22.7)
Comorbilidades	Diabetes mellitus	4 (18.2)
	Hipertensión Arterial	22 (100)
Con relación al trasplante renal		
Tipo de donación	Cadavérico	19 (86.4)
	Vivo	3 (13.6)
Tipo de inducción	Sin inducción	3 (13.6)
	Basiliximab	15 (68.2)
	Timoglobulina	4 (18.2)

Tabla 4. Estadística	Edad (años)	Tiempo en TRR (años)	Creatinina preTR (mg/dL)
Media	37.14	2.9	13.17
Desviación Estándar	15.04	1.72	4.1

### Lesión renal aguda postrasplante

Durante el seguimiento, 12 pacientes (54.5%) presentaron evolución normal durante los primeros 3 meses y 10 pacientes (45.5%) cursaron con un evento de lesión renal aguda en el tiempo de seguimiento, solo 2 pacientes cursaron con un segundo evento de disfunción del injerto, siendo en total 12 eventos. En la tabla 5 se describen los niveles de creatinina sérica previo al trasplante, a las 3 semanas, a los 3 meses, y durante el evento de lesión renal aguda. La disfunción del injerto tuvo diversas etiologías en los pacientes, las cuales se describen en la tabla 6.

Tabla 5. Estadística	CrS 3 sem (mg/dL)	CrS 3 mes (mg/dL)	CrS LRA (mg/dL)
Media	1.8	1.05	3.2
Desviación Estándar (DE)	1.17	0.34	2.17

Tabla 6. Causa de disfunción aguda del injerto en trasplante renal	
Etiología de lesión renal aguda	Número = 12
Infección del tracto urinario	4
Rechazo agudo	4
Necrosis Tubular Aguda	3
Hidronefrosis	1

En cuanto al agente causal en pacientes con infección del tracto urinario fueron los siguientes: *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii* y *Klebsiella pneumoniae*. La causa de necrosis tubular aguda se atribuyó a toxicidad por inhibidores de calcineurina, todos los pacientes presentaron niveles altos de tacrolimus (14ng/mL).

Dos pacientes presentaron hidronefrosis, sin embargo, solo a uno se atribuyó como causal de lesión renal aguda, el otro paciente presentó en conjunto infección urinaria. Ambas lesiones obstructivas fueron resueltas por urología con catéter JJ. Los pacientes con rechazo humoral y celular recibieron manejo inmunosupresor.

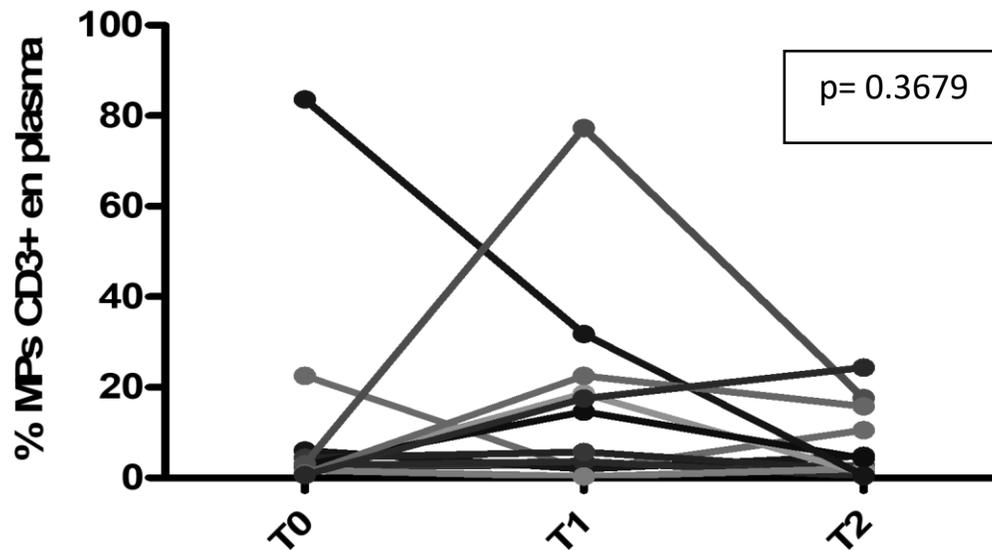
*Pacientes con evolución normal postrasplante*

Micropartículas plasmáticas

Todos los pacientes presentaron un descenso paulatino de todas las micropartículas, sin embargo, no se presentaron valores estadísticamente significativos. Presentamos en las siguientes tablas (tabla 7, 8, 9, 10, 11, 12) y gráficas (gráfica 1, 2, 3, 4, 5, 6) los niveles de micropartículas plasmáticas para linfocitos B (CD19<sup>+</sup>), linfocitos T (CD3<sup>+</sup>), monocitos (CD14<sup>+</sup>), plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) y células endoteliales (CD62e<sup>+</sup> y CD144<sup>+</sup>).

Tabla 7. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )			
Pacientes	Linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	2.64	2.77	2.68
Paciente 2	22.5	1.68	10.5
Paciente 3	6.06	1.95	4.91
Paciente 4	2.68	3.65	0.4
Paciente 5	4.42	5.71	1.71
Paciente 6	1.69	0.33	2
Paciente 7	1.75	18.6	0.96
Paciente 8	2.77	14.6	4.27
Paciente 9	58.35	31.8	0.56
Paciente 10	3.03	27.3	17.6
Paciente 11	0.95	22.5	15.8
Paciente 12	0.59	17.5	24.4

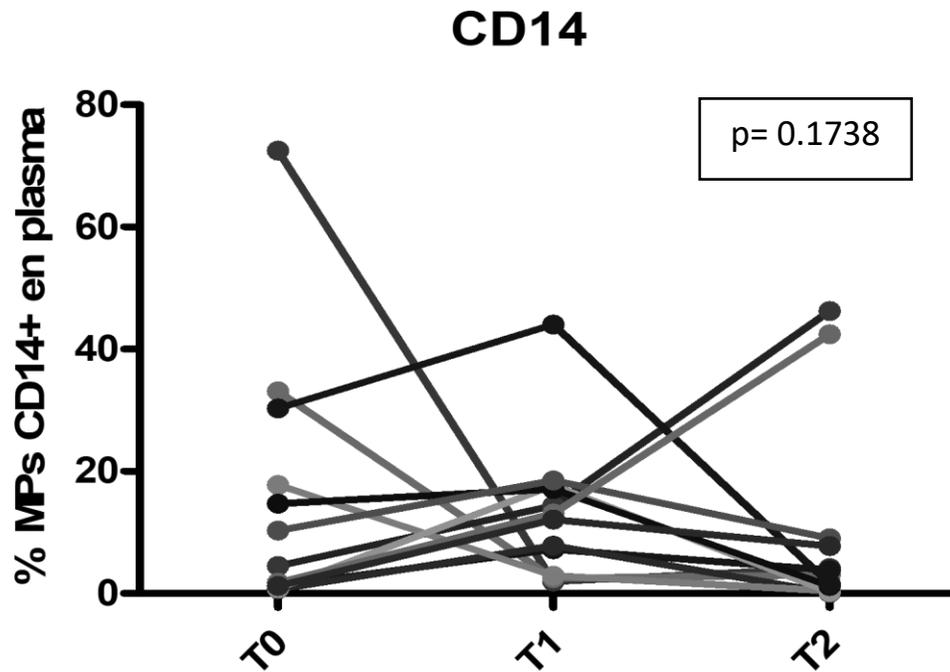
### CD3



Gráfica 1. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3<sup>+</sup>)

Tabla 8. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14<sup>+</sup>)

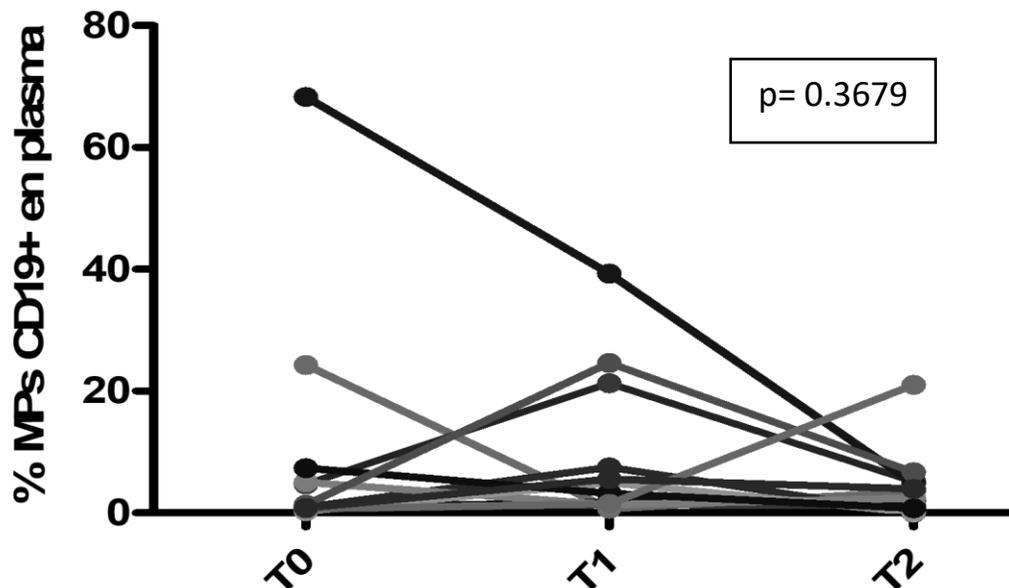
Pacientes	Monocitos (CD14 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	72.5	1.98	4.19
Paciente 2	33.1	2.5	3
Paciente 3	1.23	7.25	3.84
Paciente 4	0.72	7.8	0.13
Paciente 5	4.5	14.4	46.2
Paciente 6	17.8	2.91	0.46
Paciente 7	0.82	17.7	0.23
Paciente 8	14.7	17.1	1.22
Paciente 9	30.3	44	1.57
Paciente 10	10.3	18.5	9.06
Paciente 11	1.75	13.1	42.4
Paciente 12	1.24	12.1	7.74



Gráfica 2. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14<sup>+</sup>)

Tabla 9. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19 <sup>+</sup> )			
Pacientes	Linfocitos B (CD19 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	0.7	1.38	1.25
Paciente 2	24.3	0.67	3.51
Paciente 3	0.95	1.75	2.03
Paciente 4	0.98	7.47	0.051
Paciente 5	4.7	21.3	5.2
Paciente 6	5.04	1.35	2.44
Paciente 7	0.31	4.98	0.13
Paciente 8	7.36	3.2	0.76
Paciente 9	68.3	39.3	4.86
Paciente 10	1.39	24.6	6.67
Paciente 11	0.69	1.5	21
Paciente 12	0.86	5.55	3.99

## CD19

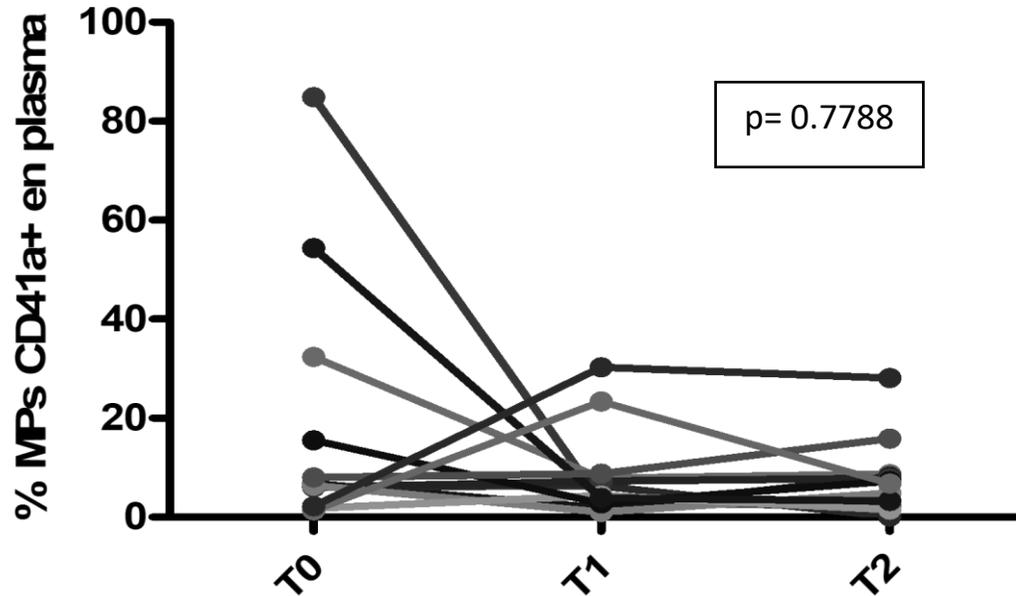


Gráfica 3. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19+).

Tabla 10. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a+)

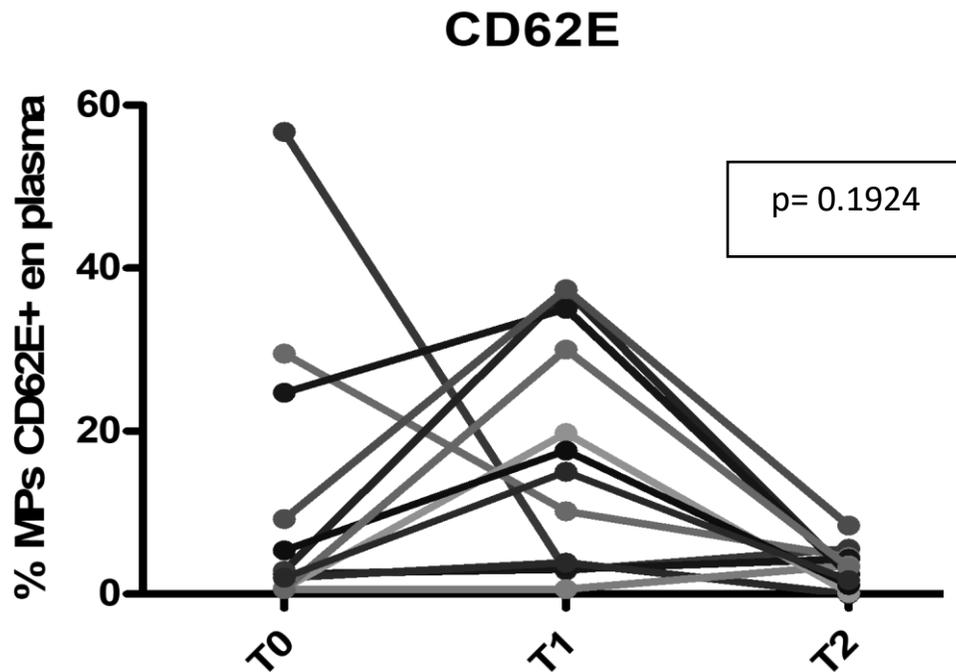
Pacientes	Plaquetas (CD41a+)		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	84.9	3.12	2.09
Paciente 2	32.4	7.84	8.72
Paciente 3	6.75	1.84	8.23
Paciente 4	6.2	6.28	0.16
Paciente 5	6.03	7.27	7.87
Paciente 6	6.38	1.03	4.91
Paciente 7	1.79	4.4	1.51
Paciente 8	15.5	2.83	7.31
Paciente 9	54.4	4.9	3.28
Paciente 10	8	8.8	15.9
Paciente 11	1.37	23.4	6.81
Paciente 12	2.18	30.3	28.1

## CD41a



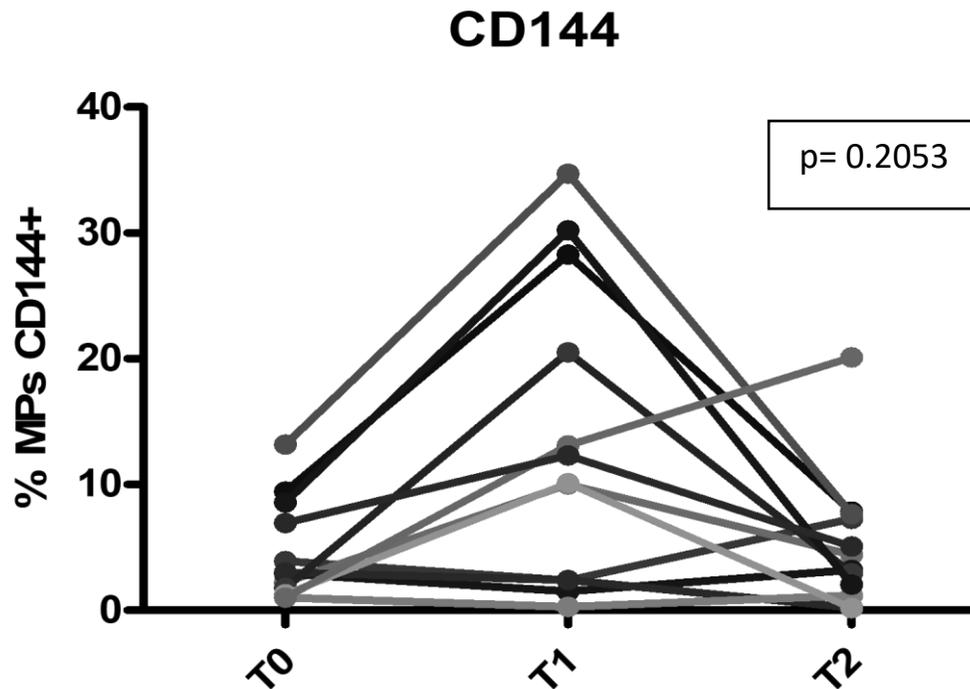
Gráfica 4. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a+).

Tabla 11. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD62e <sup>+</sup> )			
Pacientes	Células endoteliales (CD62e <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	56.7	2.9	5.6
Paciente 2	29.5	10.2	4.55
Paciente 3	2.49	3.1	4.33
Paciente 4	2.03	3.89	0.04
Paciente 5	2.86	37.2	2.46
Paciente 6	0.64	0.64	3.53
Paciente 7	0.73	19.8	0.16
Paciente 8	5.38	17.6	1.15
Paciente 9	24.7	35	2.4
Paciente 10	9.22	37.4	8.44
Paciente 11	0.62	30	3.34
Paciente 12	2.05	15	1.7



Gráfica 5. Niveles de micropartículas plasmáticas en células endoteliales (CD62e+).

Tabla 12. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD144+)			
Pacientes	Células endoteliales (CD144+)		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	0.93	2.39	7.29
Paciente 2	2.23	10	4.42
Paciente 3	2.9	1.53	3.23
Paciente 4	3	2.42	0.2
Paciente 5	1.77	20.5	2.95
Paciente 6	1.01	0.29	1.18
Paciente 7	1.29	10.1	0.19
Paciente 8	9.46	28.3	7.84
Paciente 9	8.58	30.2	2.06
Paciente 10	13.2	34.7	7.65
Paciente 11	1.01	13.1	20.1
Paciente 12	6.96	12.3	5.1

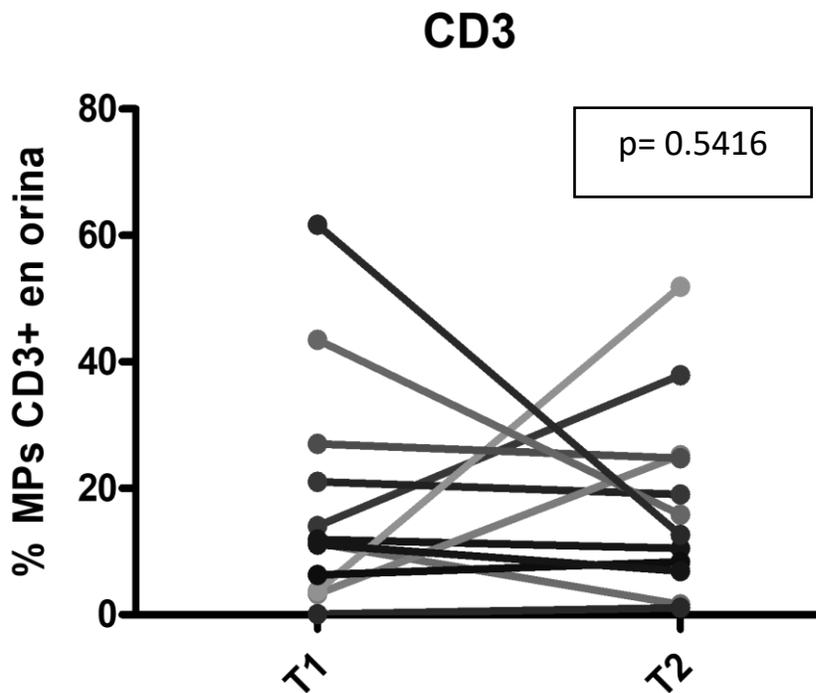


Gráfica 6. Niveles de micropartículas plasmáticas en células endoteliales (CD144+).

### Micropartículas urinarias

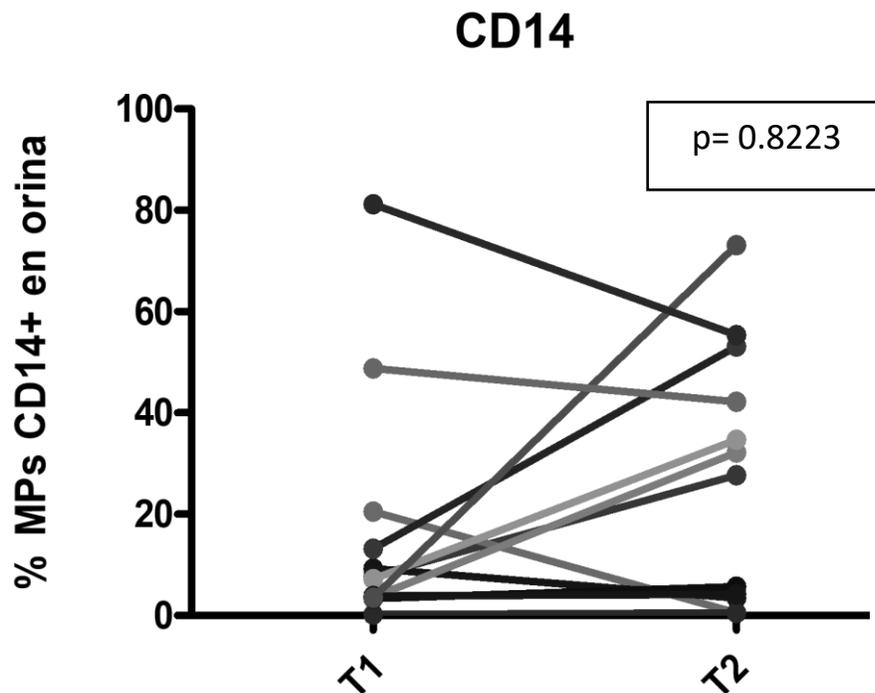
Todos los pacientes presentaron un descenso paulatino de todas las micropartículas, sin embargo, no se presentaron valores estadísticamente significativos. Presentamos en las siguientes tablas (tabla 13, 14, 15, 16, 17) y gráficas (gráfica 7, 8, 9, 10, 11, 12) los niveles de micropartículas urinarias para linfocitos B (CD19<sup>+</sup>), linfocitos T (CD3<sup>+</sup>), monocitos (CD14<sup>+</sup>), plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) y células endoteliales (CD62e<sup>+</sup> y CD144<sup>+</sup>).

Tabla 13. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )		
Pacientes	Linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	14	37.9
Paciente 2	11.3	1.65
Paciente 3	11.9	10.5
Paciente 4	0.084	1.12
Paciente 5	21	19
Paciente 6	3.29	25.2
Paciente 7	3.8	51.9
Paciente 8	6.3	8.38
Paciente 9	11.1	6.88
Paciente 10	27	24.8
Paciente 11	43.5	15.8
Paciente 12	61.7	12.6



Gráfica 7. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3<sup>+</sup>).

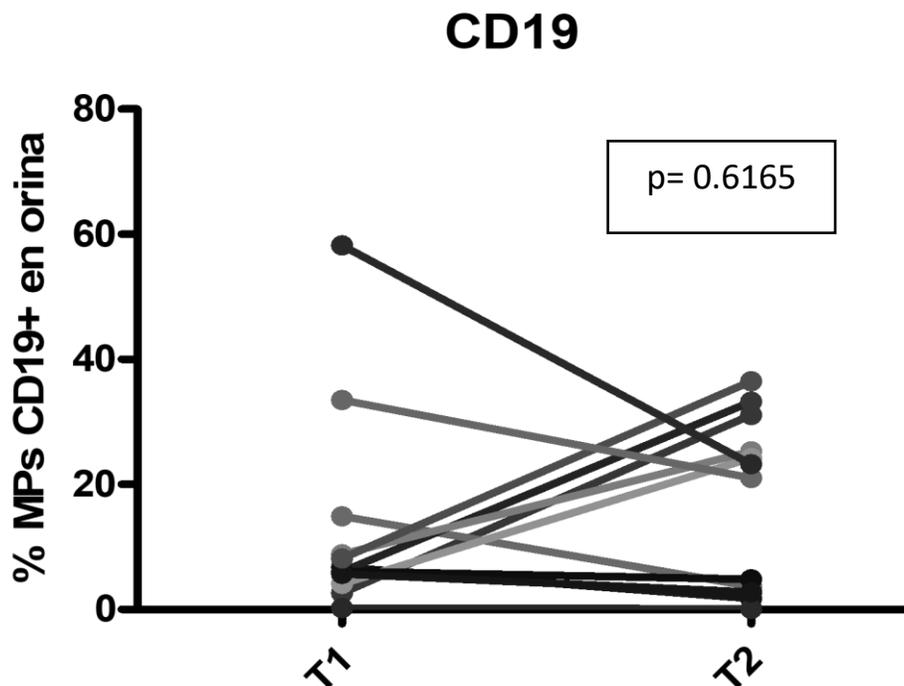
Tabla 14. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14 <sup>+</sup> )		
Pacientes	Monocitos (CD14 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	7.77	27.7
Paciente 2	20.5	0.54
Paciente 3	9.33	3.42
Paciente 4	0.23	0.56
Paciente 5	13.2	53.1
Paciente 6	3.6	32.2
Paciente 7	7.2	34.7
Paciente 8	3.4	5.73
Paciente 9	3.9	4.24
Paciente 10	3.5	73.3
Paciente 11	48.8	42.2
Paciente 12	81.2	55.4



Gráfica 8. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14<sup>+</sup>).

**Tabla 15. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19<sup>+</sup>)**

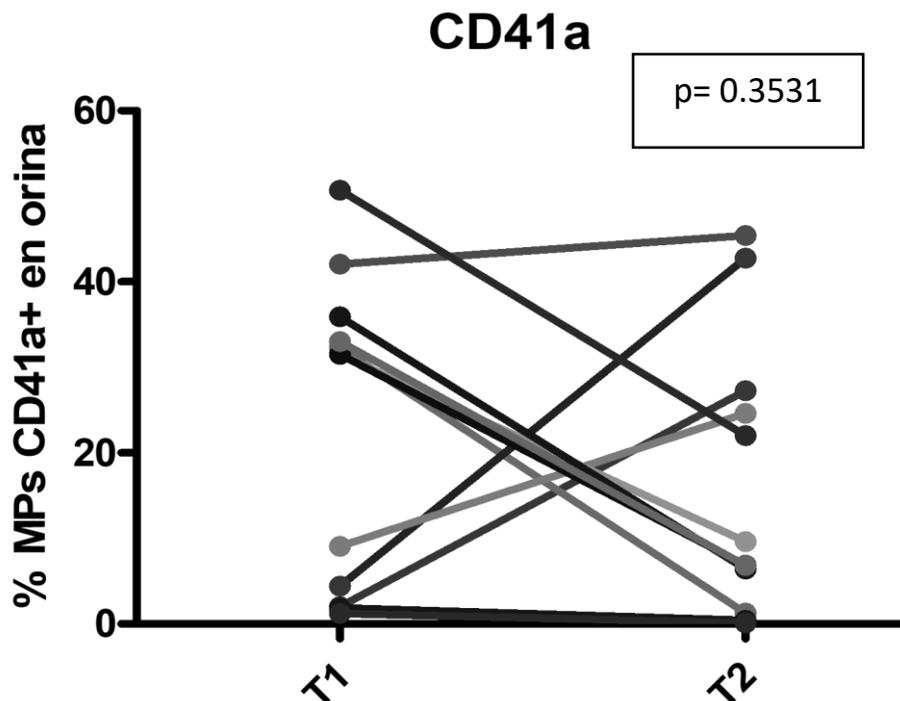
Pacientes	Linfocitos B (CD19 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	2.62	31.1
Paciente 2	14.9	3.73
Paciente 3	6.78	1.77
Paciente 4	0.24	0.12
Paciente 5	6.04	33.2
Paciente 6	8.8	25.3
Paciente 7	4.1	24.2
Paciente 8	6.1	4.85
Paciente 9	5.73	2.79
Paciente 10	8.2	36.5
Paciente 11	33.5	21
Paciente 12	58.2	23.2



Gráfica 9. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19<sup>+</sup>).

**Tabla 16. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a<sup>+</sup>)**

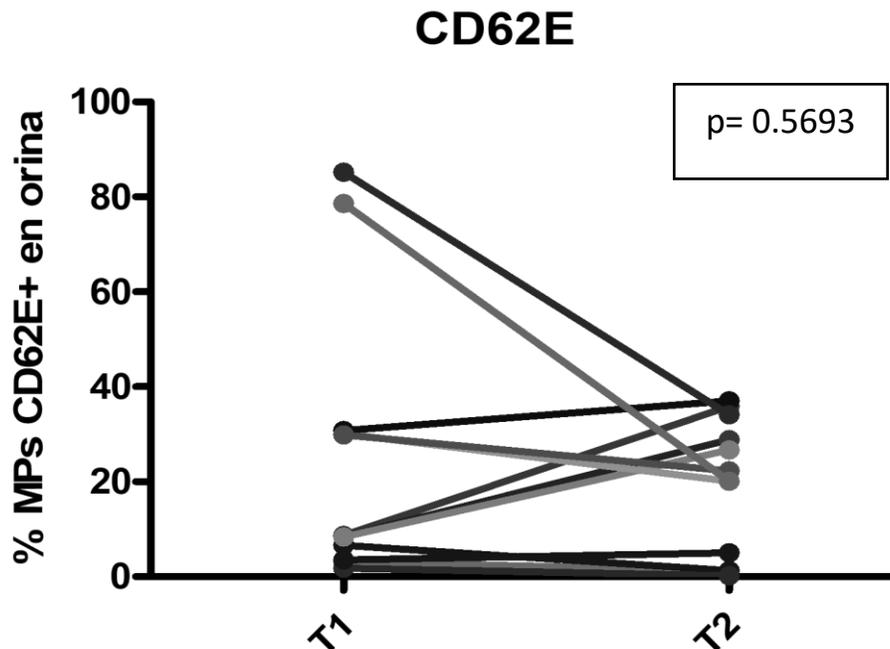
Pacientes	Plaquetas (CD41a <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	2.05	27.3
Paciente 2	32.3	1.27
Paciente 3	1.85	0.44
Paciente 4	1.23	0.1
Paciente 5	4.43	42.8
Paciente 6	9.07	24.6
Paciente 7	41.5	9.63
Paciente 8	31.5	6.88
Paciente 9	35.9	6.41
Paciente 10	24.1	45.4
Paciente 11	33	6.81
Paciente 12	50.7	22



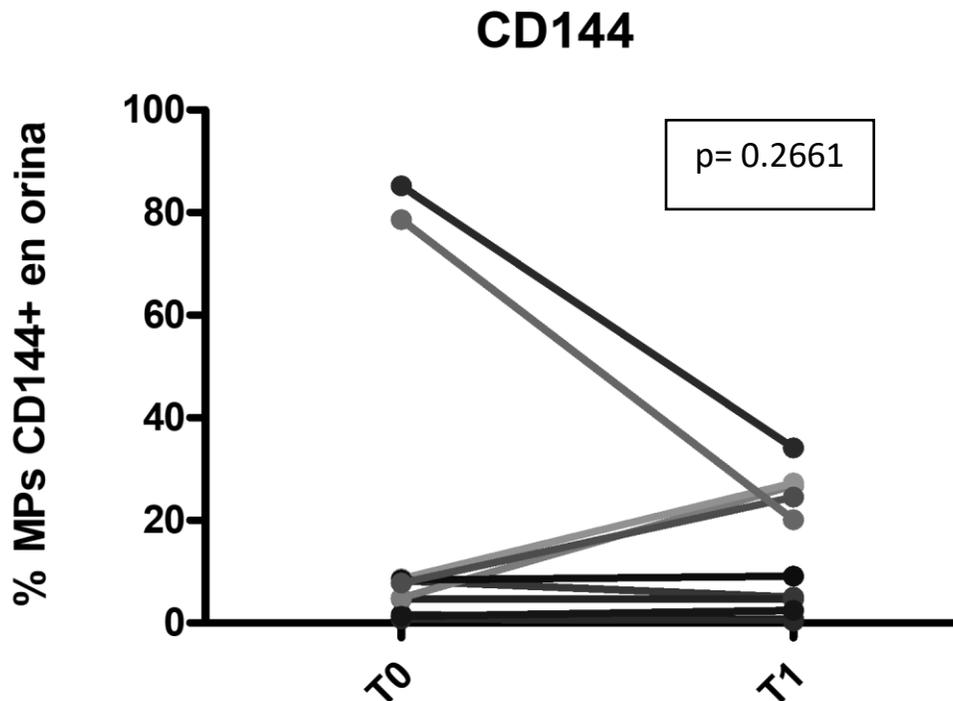
Gráfica 10. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a<sup>+</sup>).

**Tabla 17. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e<sup>+</sup> y CD144<sup>+</sup>)**

Pacientes	Células endoteliales (CD62e <sup>+</sup> )		Células endoteliales (CD144 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (3m/T2)
Paciente 1	8.67	35.9	8.18	5.03
Paciente 2	3.09	1.28	1.63	0.85
Paciente 3	6.59	1.25	1.58	0.56
Paciente 4	1.82	0.23	0.77	0.4
Paciente 5	8.47	28.9	4.74	4.63
Paciente 6	8.36	26.7	4.87	26.8
Paciente 7	30.1	20.1	8.6	27.3
Paciente 8	30.8	37	8.4	9.09
Paciente 9	3.54	5.01	1.31	2.46
Paciente 10	29.9	22.3	7.8	24.5
Paciente 11	77.1	17.59	78.6	20.1
Paciente 12	86.5	16.35	85.2	34.1



Gráfica 11. Niveles de micropartículas urinarias en células endoteliales (CD62e<sup>+</sup>).



Gráfica 12. Niveles de micropartículas urinarias en células endoteliales (CD144+).

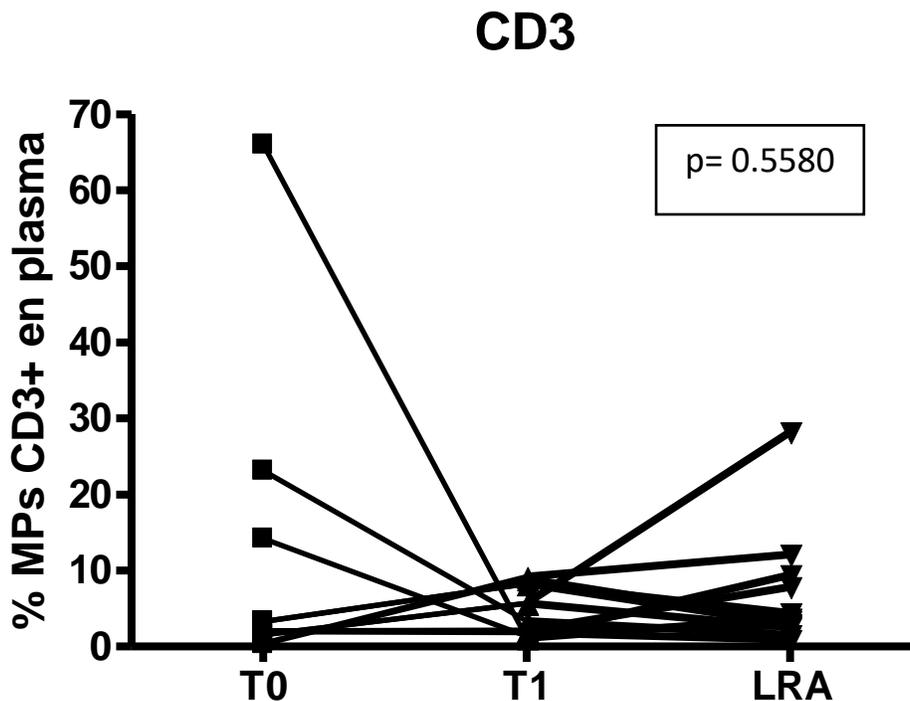
#### *Pacientes con lesión renal aguda*

#### Micropartículas plasmáticas

Se presentaron 12 eventos de disfunción aguda del injerto en 10 pacientes, los cuales se describen en las siguientes tablas (tabla 18, 19, 20, 21, 22, 23) y gráficas (gráfica 13, 14, 15, 16, 17, 18) los niveles de micropartículas urinarias para linfocitos B (CD19<sup>+</sup>), linfocitos T (CD3<sup>+</sup>), monocitos (CD14<sup>+</sup>), plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) y células endoteliales (CD62e<sup>+</sup> y CD144<sup>+</sup>).

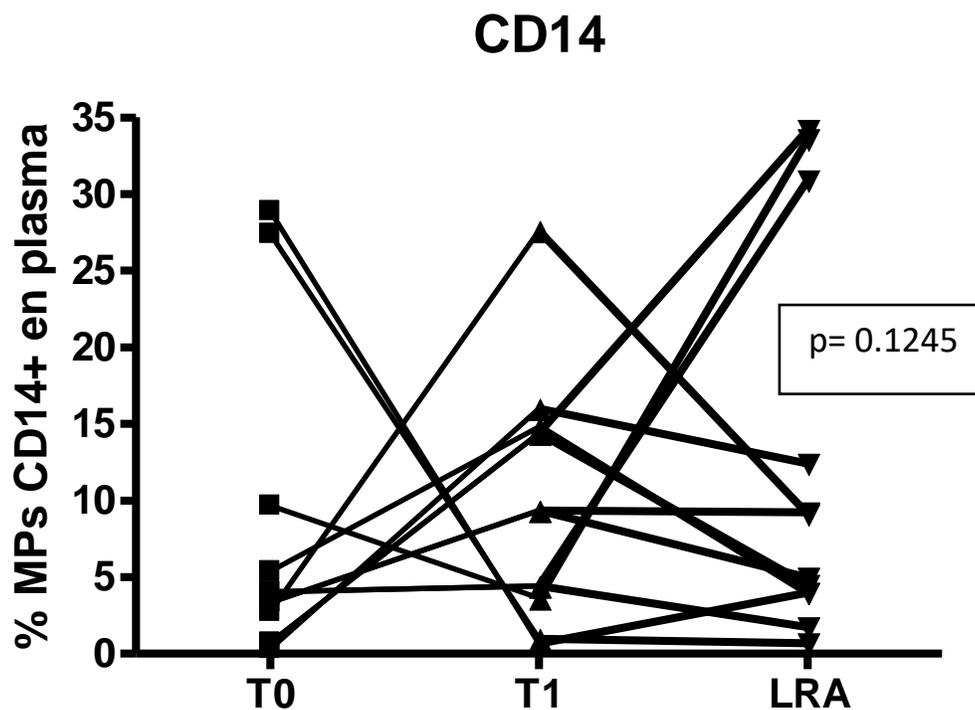
De todas las micropartículas plasmáticas, solo la derivada de linfocitos B (CD19<sup>+</sup>) tuvo valores estadísticamente significativos (p= 0.0388).

Tabla 18. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )			
Eventos	Linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	66	1.14	3.68
Evento 2	2.09	2.14	2.8
Evento 3	14.2	1.36	9.4
Evento 4	1.98	1.81	0.88
Evento 5	3.3	8.25	4.39
Evento 6	1.54	5.66	28.2
Evento 7	0.32	8.92	3.43
Evento 8	0.42	9.18	12.1
Evento 9	23.1	3.33	1.54
Evento 10	2.09	2.14	7.84
Evento 11	3.3	8.25	2.97
Evento 12	1.54	5.66	2.53



Gráfica 13. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos T (CD3<sup>+</sup>) en LRA.

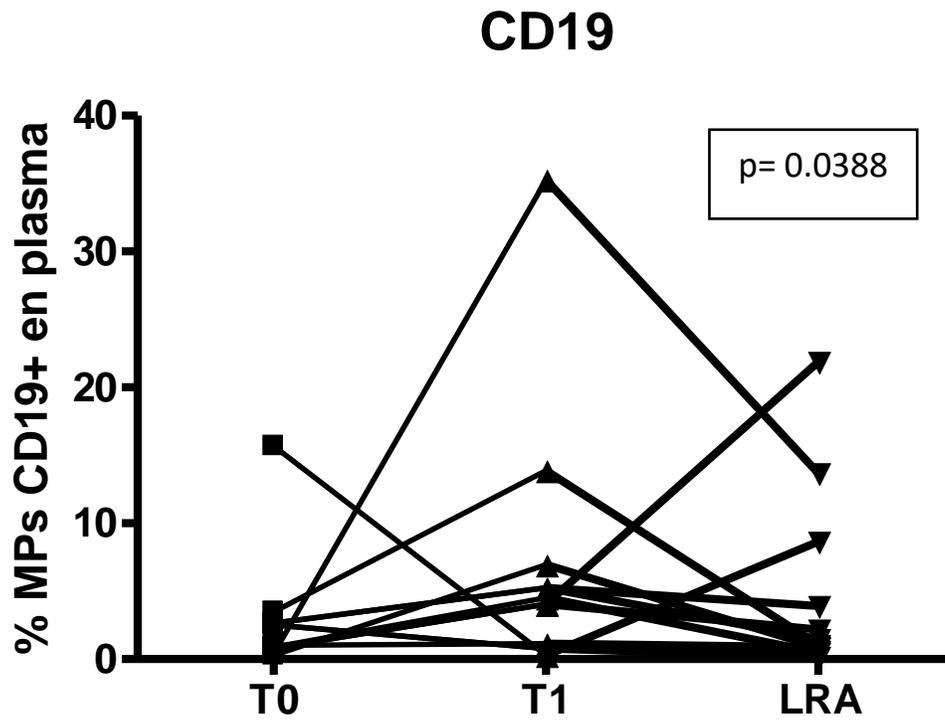
Tabla 19. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14 <sup>+</sup> )			
Eventos	Monocitos (CD14 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	28.9	0.66	3.99
Evento 2	4.03	4.41	1.73
Evento 3	9.68	3.64	33.6
Evento 4	27.4	0.99	0.68
Evento 5	3.33	9.36	4.96
Evento 6	0.72	14.4	34.2
Evento 7	0.3	16	12.4
Evento 8	2.72	27.6	9.11
Evento 9	5.39	14.8	3.98
Evento 10	4.03	4.41	30.9
Evento 11	3.33	9.36	9.24
Evento 12	0.72	14.4	4.5



Gráfica 14. Niveles de micropartículas plasmáticas en monocitos (CD14<sup>+</sup>) en LRA.

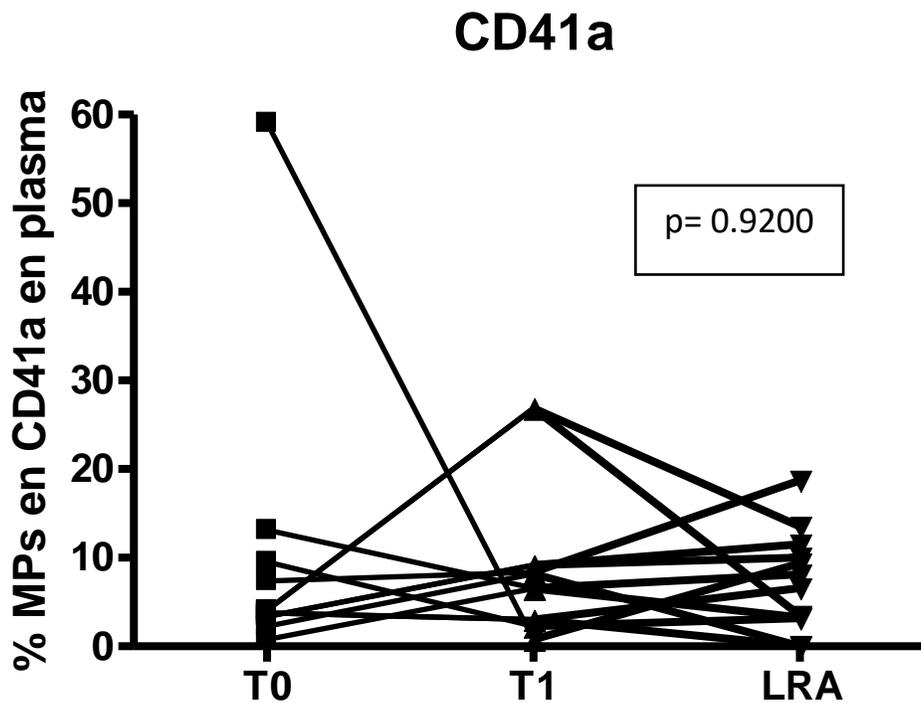
**Tabla 20. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19<sup>+</sup>)**

Eventos	Linfocitos B (CD19 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	15.7	0.28	8.65
Evento 2	2.51	0.79	0.62
Evento 3	1.01	1.16	0.87
Evento 4	0.87	4.5	0.49
Evento 5	2.64	5.26	3.92
Evento 6	0.81	4.06	21.9
Evento 7	0.28	6.94	0.87
Evento 8	0.42	35.3	13.7
Evento 9	3.49	13.9	1.06
Evento 10	2.51	0.79	0.18
Evento 11	2.64	5.26	1.49
Evento 12	0.81	4.06	2.19



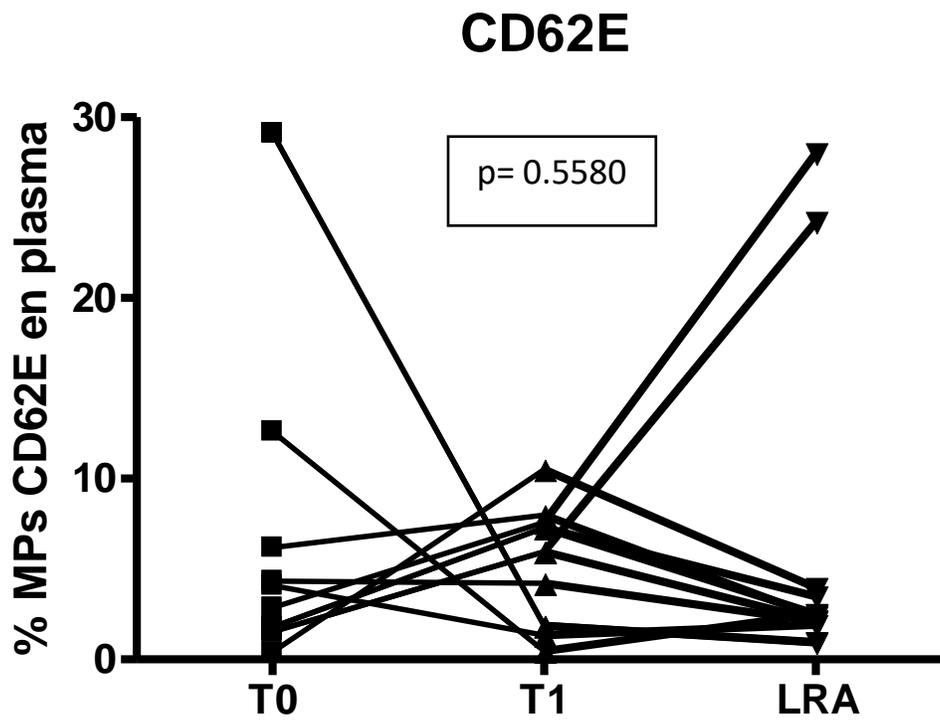
Gráfica 15. Niveles de micropartículas plasmáticas en linfocitos B (CD19<sup>+</sup>) en LRA.

Tabla 21. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a <sup>+</sup> )			
Eventos	Plaquetas (CD41a <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	59.1	0.78	9.39
Evento 2	3.77	3.01	6.57
Evento 3	2.28	8.18	0.01
Evento 4	13.1	6.56	8.15
Evento 5	4.05	26.9	13.5
Evento 6	3.37	9.19	11.5
Evento 7	0.79	6.51	3.29
Evento 8	7.36	8.39	18.7
Evento 9	9.54	2.28	3.18
Evento 10	3.77	3.01	0.09
Evento 11	4.05	26.9	3.46
Evento 12	3.37	9.19	10



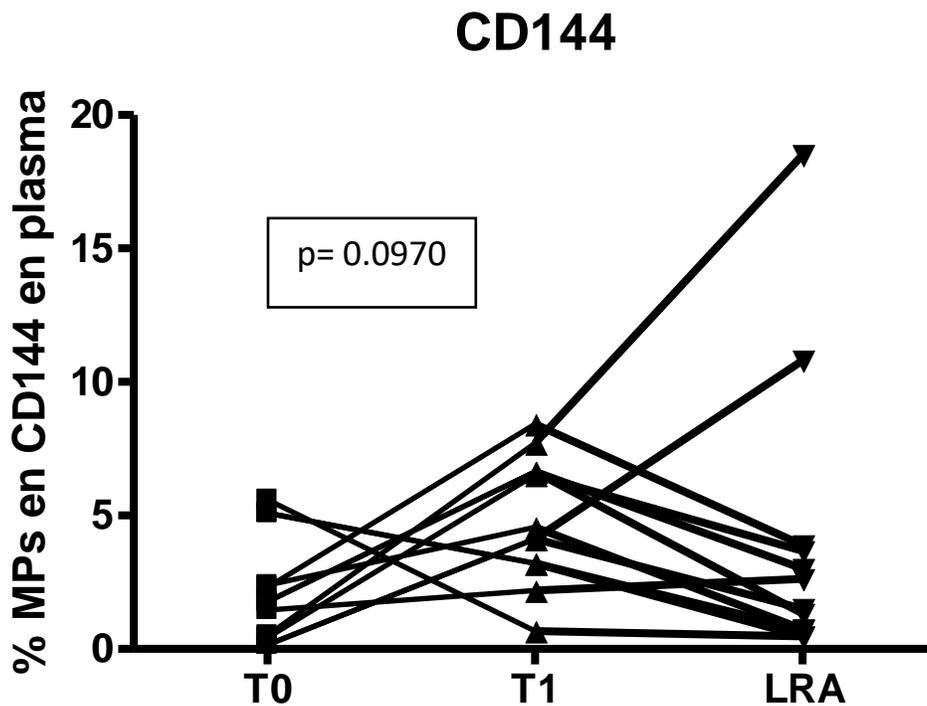
Gráfica 16. Niveles de micropartículas plasmáticas en plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) en LRA.

Tabla 22. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD62e <sup>+</sup> )			
Eventos	Células endoteliales (CD62e <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	12.6	0.46	2.52
Evento 2	29.1	1.85	0.94
Evento 3	4.08	1.34	1.92
Evento 4	4.33	4.22	2.12
Evento 5	1.79	7.29	2.52
Evento 6	1.53	5.97	24.2
Evento 7	0.41	10.5	3.96
Evento 8	2.87	7.59	28
Evento 9	6.2	7.98	2.39
Evento 10	29.1	1.85	0.96
Evento 11	1.79	7.29	3.48
Evento 12	1.53	5.97	2.17



Gráfica 17. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD62e<sup>+</sup>) en LRA.

Tabla 23. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD144 <sup>+</sup> )			
Eventos	Células endoteliales (CD144 <sup>+</sup> )		
	Pretrasplante (T0)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Evento 1	1.45	2.19	2.63
Evento 2	5.1	3.21	0.73
Evento 3	5.6	0.68	0.48
Evento 4	2.39	4.55	0.74
Evento 5	1.78	6.64	1.33
Evento 6	0.15	4.12	10.8
Evento 7	0.43	6.52	3.67
Evento 8	0.51	7.71	18.5
Evento 9	2.31	8.42	3.89
Evento 10	5.1	3.21	0.48
Evento 11	1.78	6.64	3.01
Evento 12	0.15	4.12	1.51



Gráfica 18. Niveles de micropartículas plasmáticas en CE (CD144<sup>+</sup>) en LRA.

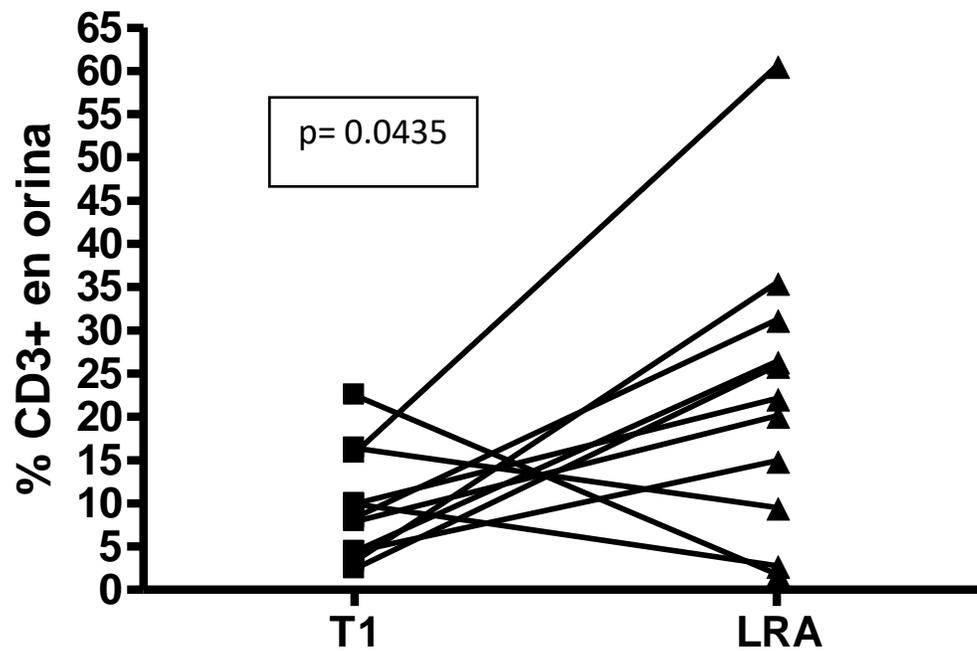
### Micropartículas urinarias

Durante los eventos de lesión renal aguda, uno de los pacientes presentó anuria y pérdida del injerto, por lo cual se descartó de la muestra a estudiar, obteniendo un total de 9 pacientes con 11 eventos de disfunción aguda del injerto; los cuales se describen en las siguientes tablas (tabla 24, 25, 26, 27, 28) y gráficas (gráfica 19, 20, 21, 22, 23, 24), así como los niveles de micropartículas urinarias para linfocitos B (CD19<sup>+</sup>), linfocitos T (CD3<sup>+</sup>), monocitos (CD14<sup>+</sup>), plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) y células endoteliales (CD62e<sup>+</sup> y CD144<sup>+</sup>).

De todas las micropartículas urinarias hubo un incremento de micropartículas urinarias derivadas de linfocitos B y T, con valores estadísticamente significativos, ( $p= 0.0435$  y  $p= 0.0075$ , respectivamente); así como la derivada de plaquetas ( $p= 0.0323$ ).

Tabla 24. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> ) en LRA		
Pacientes	Linfocitos T (CD3 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Paciente 1	2.42	25.9
Paciente 2	9.92	22.10
Paciente 3	22.5	1.81
Paciente 4	16.4	9.52
Paciente 5	4.42	26.4
Paciente 6	15.8	60.6
Paciente 7	7.87	20.1
Paciente 8	3.3	35.5
Paciente 9	8.3	31.2
Paciente 10	9.92	2.80
Paciente 11	4.42	14.9

## CD3 orina

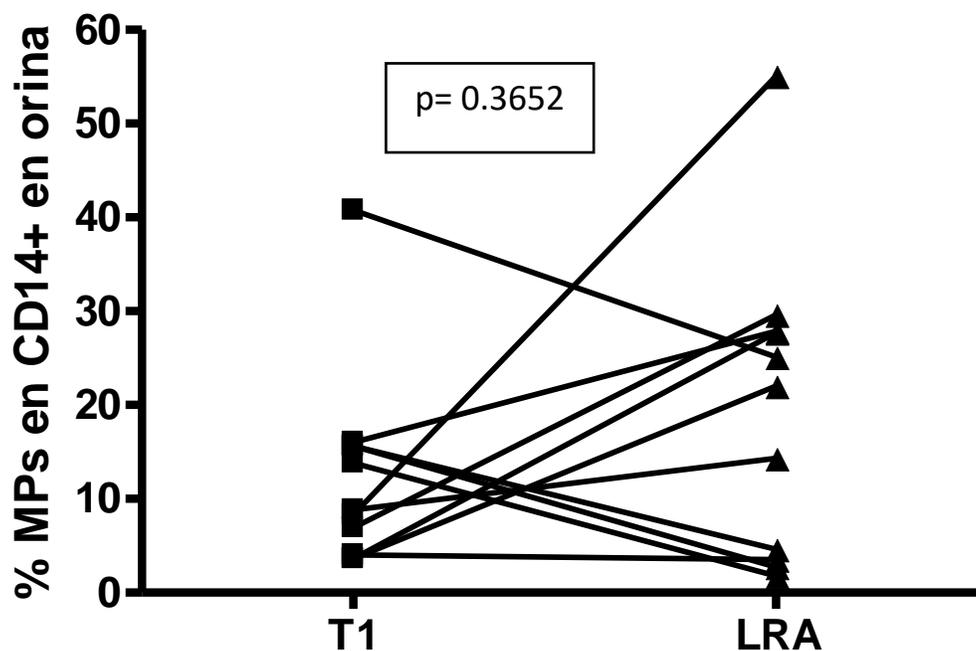


Gráfica 19. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos T (CD3+) en LRA.

Tabla 25. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) en LRA

Pacientes	Monocitos (CD14 <sup>+</sup> )	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Paciente 1	4.02	3.54
Paciente 2	15.6	4.63
Paciente 3	13.8	1.78
Paciente 4	40.8	25.1
Paciente 5	3.61	22
Paciente 6	16	27.9
Paciente 7	6.91	29.6
Paciente 8	8.8	14.3
Paciente 9	8.3	55.1
Paciente 10	15.6	2.74
Paciente 11	3.61	27.7

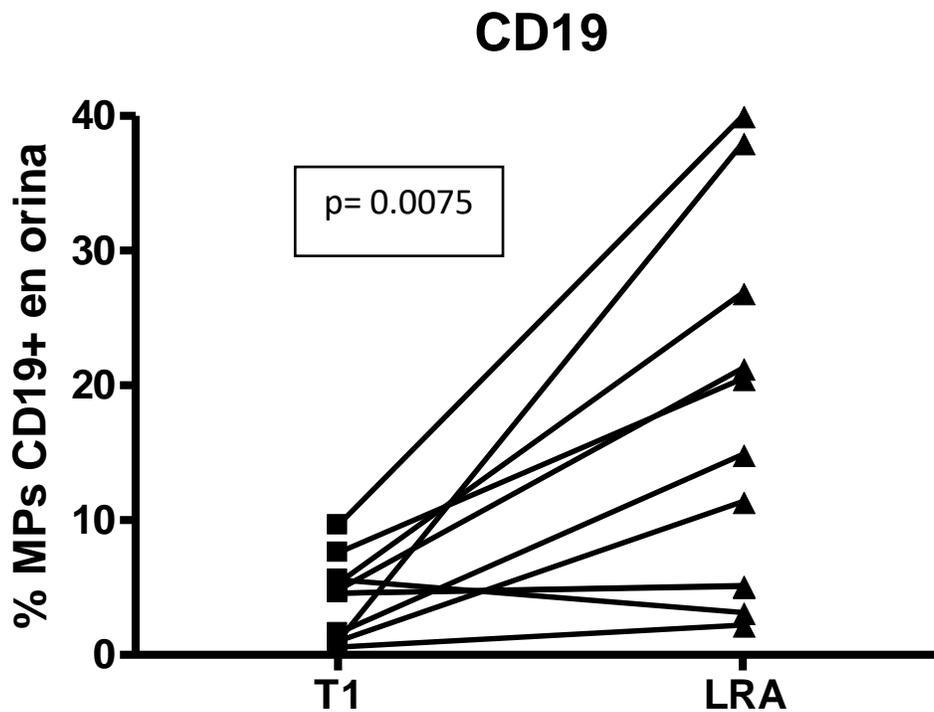
## CD14



Gráfica 20. Niveles de micropartículas urinarias en monocitos (CD14+) en LRA.

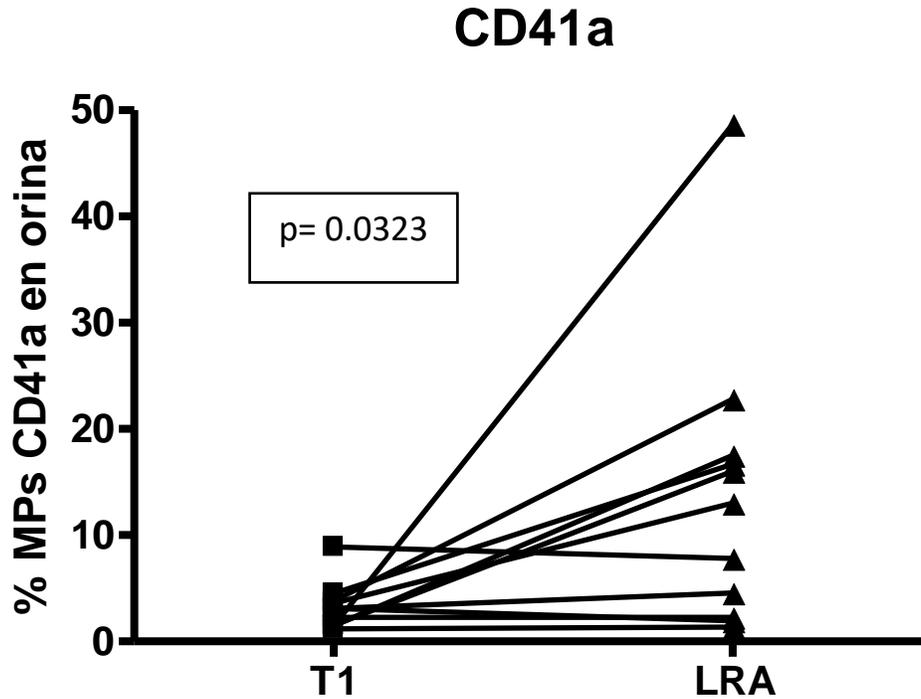
Tabla 26. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) en LRA

Pacientes	Linfocitos B (CD19+)	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Paciente 1	0.58	2.22
Paciente 2	4.57	5.07
Paciente 3	5.59	3.14
Paciente 4	5.31	26.9
Paciente 5	1.02	38
Paciente 6	4.82	21.3
Paciente 7	1.63	14.9
Paciente 8	9.6	40
Paciente 9	7.6	20.5
Paciente 10	4.57	5.14
Paciente 11	1.02	11.4



Gráfica 21. Niveles de micropartículas urinarias en linfocitos B (CD19+) en LRA.

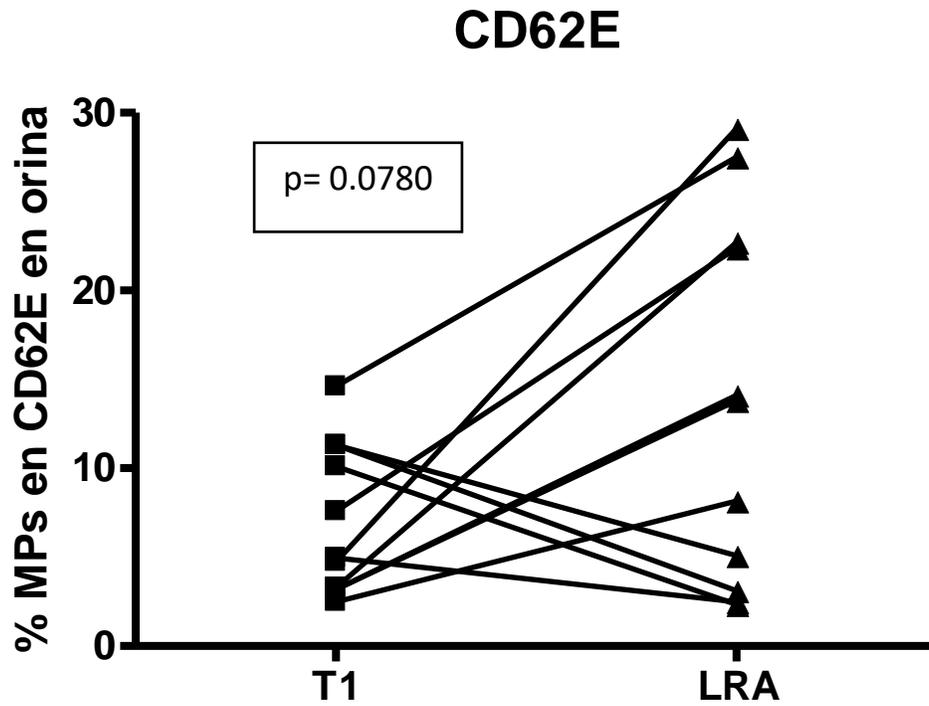
Tabla 27. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) en LRA		
Pacientes	Plaquetas (CD41a+)	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Paciente 1	1.2	1.36
Paciente 2	3.09	4.55
Paciente 3	2.29	2.27
Paciente 4	1.5	16
Paciente 5	1.49	48.7
Paciente 6	3.82	22.8
Paciente 7	4.51	16.7
Paciente 8	3.6	13
Paciente 9	8.9	7.81
Paciente 10	3.09	1.92
Paciente 11	1.49	17.5



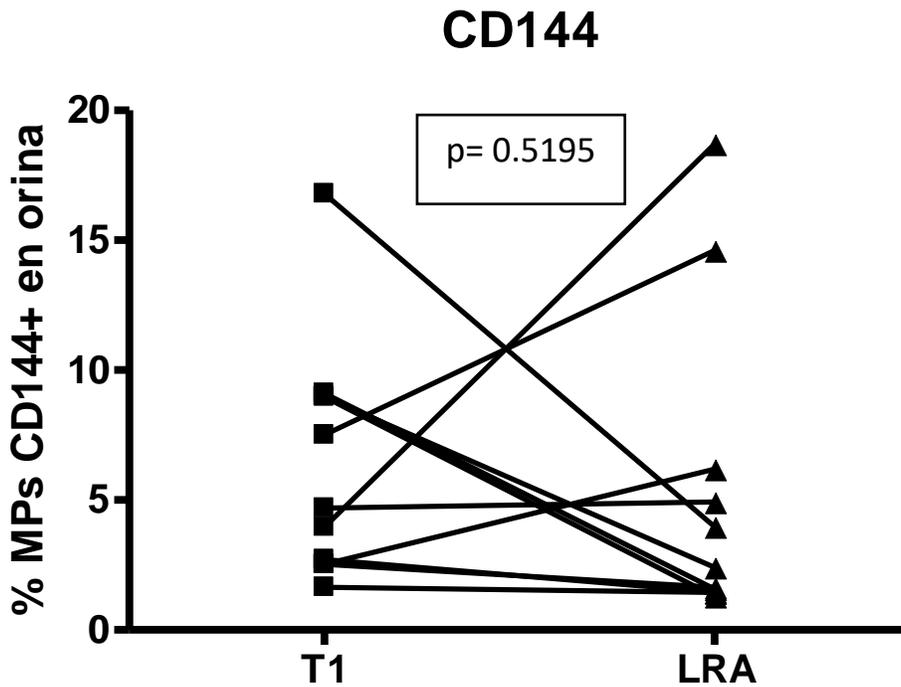
Gráfica 22. Niveles de micropartículas urinarias en plaquetas (CD41a+) en LRA.

Tabla 28. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e+ y CD144+)

Pacientes	células endoteliales (CD62e+)		células endoteliales (CD144+)	
	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)	Postrasplante (3s/T1)	Postrasplante (LRA)
Paciente 1	4.97	2.48	2.71	1.46
Paciente 2	11.3	3.12	8.97	2.4
Paciente 3	10.1	2.34	9.1	1.57
Paciente 4	14.6	27.5	16.8	3.97
Paciente 5	3.18	14.1	2.53	1.64
Paciente 6	4.73	29.1	4.69	4.93
Paciente 7	2.49	8.16	1.65	1.44
Paciente 8	3.3	22.7	7.5	14.6
Paciente 9	7.6	22.4	3.95	18.7
Paciente 10	11.3	5.1	8.97	1.3
Paciente 11	3.18	13.8	2.53	6.19

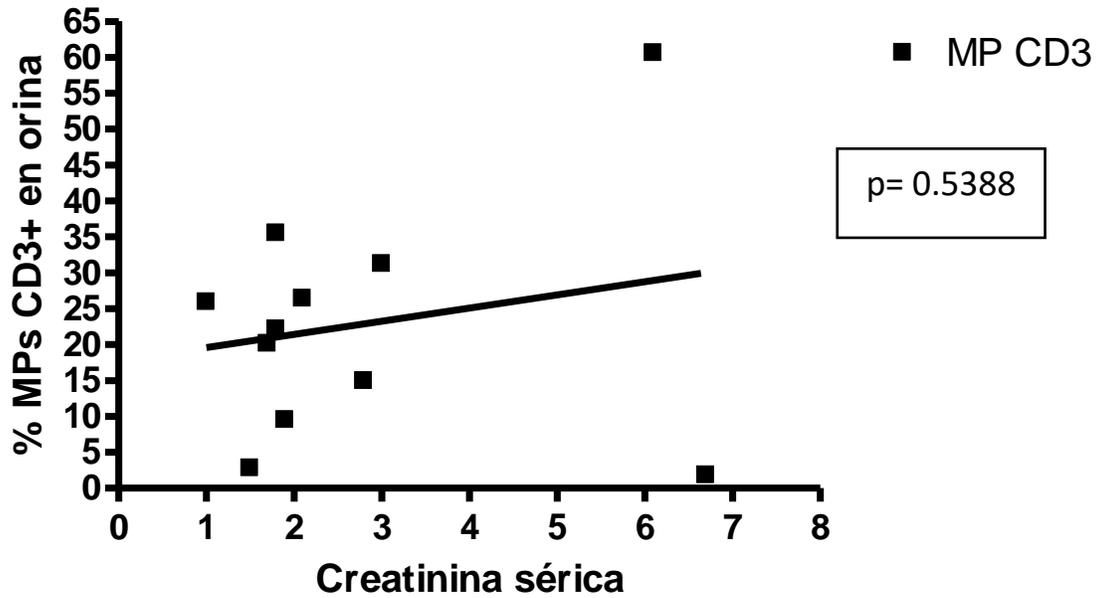


Gráfica 23. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD62e+) en LRA.

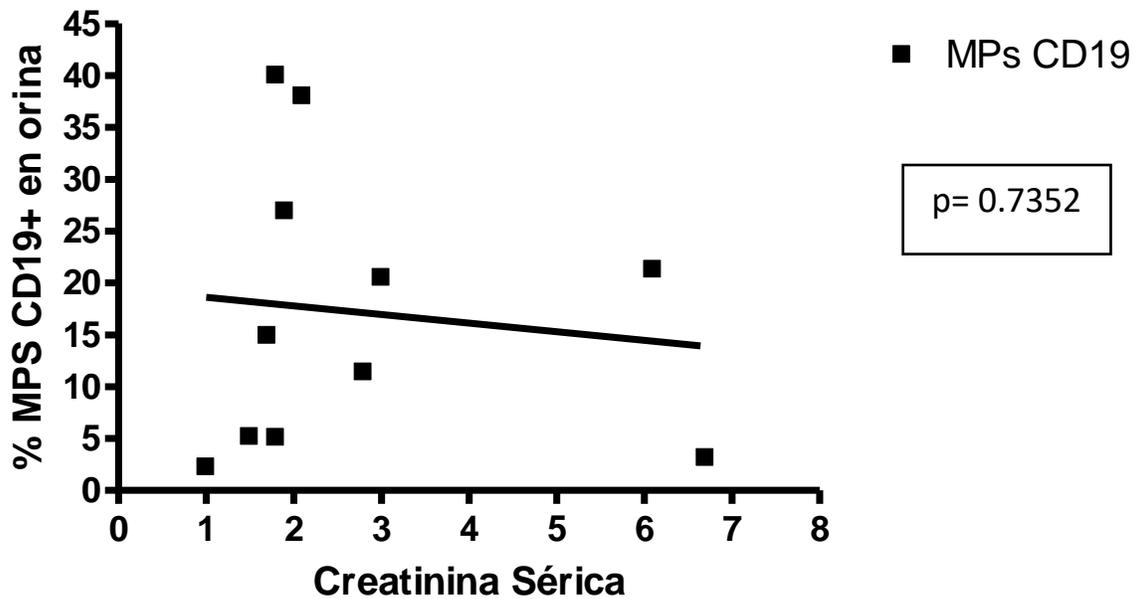


Gráfica 24. Niveles de micropartículas urinarias en CE (CD144+) en LRA.

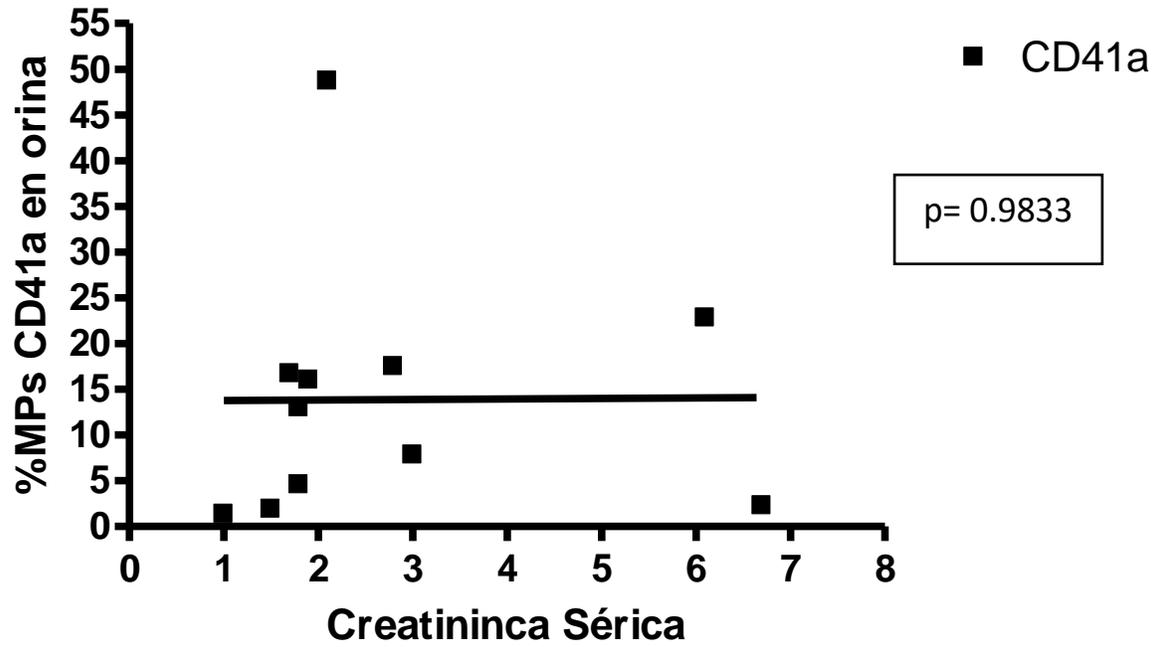
Al encontrar valores estadísticamente significativos en ciertas micropartículas en orina, se realizó correlación lineal de Pearson de los niveles de micropartículas urinarias y de los niveles de creatinina sérica, los cuales no arrojaron resultados estadísticamente significativos.



Gráfica 25. Correlación lineal de CD3+ urinario y creatinina sérica en lesión renal



Gráfica 26. Correlación lineal de CD19+ urinario y creatinina sérica en lesión renal.



Gráfica 27. Correlación lineal de CD41a<sup>+</sup> urinario y creatinina sérica en lesión renal.

## DISCUSIÓN.

Las micropartículas, principalmente las derivadas de células endoteliales, han tomado relevancia en pacientes con enfermedad renal crónica, logrando la generación de modelos de prevención de muerte por causas cardiovasculares, la cual constituye la principal causa en este tipo de pacientes; así como su asociación con diversas patologías como lo es diabetes mellitus y aterosclerosis. Dicho valor se ha demostrado en pacientes con enfermedad renal crónica en terapia de reemplazo renal, donde Carmona, et al. demostró que un corte en el nivel de micropartículas de  $>264$  MVs/ $\mu$ l, se asoció con disminución en la tasa de supervivencia en este grupo de pacientes, por lo que modelos predictivos con base a micropartículas y factores de riesgo cardiovascular ofrecerán oportunidad de detección temprana a futuro (21).

Amabile, et al., nos ofrece uno de los modelos que ha asociado algunos factores de riesgo cardiovascular con micropartículas derivadas del endotelio y de plaquetas, donde se demostró un claro incremento de las concentraciones en correlación a la presencia de los factores ya conocidos, en este caso, edad y PCR de alta sensibilidad con valores estadísticamente significativos (8).

Las micropartículas derivadas de plaquetas (CD41a<sup>+</sup>) constituyen el tipo más frecuente al momento de búsqueda en individuos sanos. Sin embargo, en diversos estudios se ha encontrado un pico en su concentración en algunas patologías. En el caso de nuestro estudio, el que más apunta es la correlación con el incremento de las toxinas urémicas, como parte de los mecanismos de inflamación que ocurren en pacientes con lesión renal aguda. Es claro que su importancia radica más en el estudio de las enfermedades autoinmunes, como destaca artritis reumatoide y lupus eritematoso generalizado, como se mostró en el estudio local de Viñuela-Berni, et al. (19, 22)

Las micropartículas derivadas de plaquetas también han mostrado participación en pacientes con lesión renal aguda y sepsis, donde la elevación de su concentración muestra una correlación importante con la gravedad del proceso infeccioso. En el caso de nuestro estudio, la tercera parte de nuestros pacientes, el deterioro de la función del injerto estuvo asociada con infecciones del tracto urinario, por lo que su elevación resultaría concordante con la literatura. Algo que llama la atención, es la elevación de las micropartículas urinarias antes que las plasmáticas, por lo que con estos hallazgos podríamos hablar de un biomarcador temprano en lesión renal aguda inducida por sepsis, sin embargo, deben tomarse con cautela dichas aseveraciones, ya que solo se realizó una medición en los eventos de lesión renal aguda; se requiere una medición continua durante al menos 7 días para corroborar lo anteriormente propuesto (23, 24).

En la población receptora de trasplante renal, se han realizado diversos estudios que demuestran la disminución paulatina y persistente, durante el primer año postrasplante, de micropartículas plasmáticas derivadas de endotelio, plaquetas y leucocitos; principalmente en pacientes sin evidencia de historia cardiovascular. Se ha demostrado que la asociación del esquema de inmunosupresión que incluye inhibidores de calcineurina y antiproliferativos no influye directamente en los desenlaces de micropartículas, por lo que nuestro esquema habitual a base de prednisona, ácido micofenólico y tacrolimus; no tendría repercusión en los hallazgos que arroja nuestro estudio (11, 25).

En el caso de micropartículas derivadas de células endoteliales se ha demostrado asociación con un mayor descenso al momento de trasplante renal, principalmente en pacientes con glomerulopatías como causa de enfermedad renal crónica. Además, muestra asociación con episodios de rechazo del injerto como etiología de la disfunción del injerto en comparación a otros motivos de daño renal en receptores de trasplante renal. En nuestro estudio, de manera general no se muestra valores estadísticamente significativos en pacientes con lesión renal aguda, sin embargo, en pacientes con rechazo del injerto, muestra una importante asociación de la

elevación de micropartículas endoteliales, por lo que estudios en solo esta población podrían arrojar otro biomarcador en pacientes con rechazo del injerto (13).

Las micropartículas derivadas de leucocitos han mostrado un incremento a la par en los diversos escenarios de lesión renal aguda a lo largo de los estudios mostrados durante estas líneas, presentando importante asociación en pacientes con enfermedades autoinmunes, glomerulopatías, así como sepsis, y en el caso particular de receptores de trasplante renal, en pacientes con episodios de rechazo del injerto.

La relación entre micropartículas derivadas de endotelio y de linfocitos B es esperada si tomamos en consideración la fisiopatogenia del rechazo humoral. La presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA expresados en el endotelio precipitaría daño mediado por complemento y elementos celulares del sistema inmune innato, esto llevaría a la liberación de micropartículas endoteliales por daño inmunológico y liberación de micropartículas derivadas de leucocitos por activación.

Uno de los principales hallazgos de este estudio se mostró al considerar como grupo a los pacientes con daño renal intrínseco. Se observó elevación de micropartículas urinarias derivadas de leucocitos con valores estadísticamente significativos, en lugar de aquellas obtenidas del plasma; por lo que, con estos hallazgos, podríamos considerar la muestra obtenida de orina mucho más sensible en comparación a la plasmática, además, de no evidencia de correlación lineal con valores de creatinina sérica, por lo que resulta prometedor considerar a las micropartículas urinarias como un biomarcador temprano de lesión renal aguda intrínseca.

## **LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.**

Las limitantes recaen en el diseño metodológico al tratarse de un estudio piloto. Además de no completar el tamaño de muestra deseado. Se requieren una cantidad mayor de pacientes para demostrar la significancia estadística de las micropartículas en orina derivadas de leucocitos.

Llama la atención la tendencia de grupo de incremento de micropartículas en orina derivadas de linfocitos en todos los pacientes con disfunción aguda del injerto, incluso antes de la elevación de creatinina en algunos pacientes. Por lo que un tamaño de la muestra aun mayor dirigido hacia eventos de lesión renal aguda en trasplante renal podría confirmar la tendencia de estas micropartículas.

Ante la tendencia actual que se presenta en este estudio, de confirmarse podríamos encontrarnos ante la presencia de un posible biomarcador urinario temprano de lesión renal aguda, por el momento en pacientes trasplantados, que incluso, podría tratar de identificarse en pacientes críticamente enfermos.

Resulta importante e indispensable continuar la búsqueda de nuevos biomarcadores tempranos de lesión renal aguda, por lo que las preguntas que debemos hacernos en futuros trabajos recaen en buscar la elevación y significancia de las micropartículas urinarias en pacientes que presenten disminución de volúmenes urinarios dentro de las primeras 6 o 12 horas de identificación para confirmar su rentabilidad diagnóstica como posible biomarcador de lesión renal aguda, incluso previo a la elevación de creatinina sérica.



## **CONCLUSIONES.**

En pacientes receptores de trasplante renal con disfunción aguda del injerto, se demostró, con valores estadísticamente significativos, la elevación de micropartículas en orina derivadas de linfocitos, CD3<sup>+</sup> y CD19<sup>+</sup> respectivamente.

Dada la tendencia de grupo de patologías con daño intrínseco (rechazo agudo, infección del tracto urinario, necrosis tubular aguda), podría catalogarse como un biomarcador de lesión renal aguda en pacientes receptores de trasplante renal.

Los niveles de creatinina sérica, en eventos de disfunción aguda del injerto, con los niveles de micropartículas en orina derivadas de linfocitos, no se encuentran correlación, por lo que podría tratarse de un biomarcador temprano de lesión renal aguda intrínseca, por el momento, en pacientes receptores de trasplante renal.

Este estudio piloto abre la oportunidad de búsqueda de un nuevo biomarcador temprano de daño renal intrínseco; se requiere de una población aun mayor para mostrar la rentabilidad diagnóstica de la prueba, y su veracidad como predictor de lesión renal aguda, incluso antes de la elevación de creatinina sérica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Burger D, Schock S, Thompson CS, Montezano AC, Hakim AM, Touyz RM. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clin Sci (Lond)* 2013; 124: 423-441 [PMID: 23249271 DOI: 10.1042/CS20120309]
2. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev* 2007; 21:157-171 [PMID: 17118501 DOI: 10.1016/j.blre.2006.09.001]
3. Dignat-George F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol* 2000; 65: 215-220 [PMID: 11073162 DOI: 10.1034/j.1600-0609.2000.065004215]
4. Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, Dignat-George F, Freyssinet JM, Tedgui. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res* 2009; 335: 143-151 [PMID: 18989704 DOI: 10.1007/s00441-008-0710-9]
5. Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension* 2006; 48: 180-186 [PMID: 16801490 DOI: 10.1161/01.HYP.0000231507.00962]
6. Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 339-345 [PMID: 11283606 DOI: 10.1038/35070009]
7. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 168-175 [PMID: 12588755 DOI: 10.1161/01.
8. Amabile N, Guérin AP, Tedgui A, Boulanger CM, London GM. Predictive value

- of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure: a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 1873-1880 [PMID: 22036944 DOI: 10.1093/ndt/gfr573]
9. Dursun I, Poyrazoglu HM, Gunduz Z, Ulger H, Yykylmaz A, Dusunsel R, Patyroglu T, Gurgoze M. The relationship between circulating endothelial microparticles and arterial stiffness and atherosclerosis in children with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 2511-2518 [PMID: 19244228 DOI: 10.1093/ndt/gfp066]
  10. Cerini C, Dou L, Anfosso F, Sabatier F, Moal V, Glorieux G, DeSmet R, Vanholder R, Dignat-George F, Sampol J, Berland Y, Brunet P. P-cresol, a uremic retention solute, alters the endothelial barrier function in vitro. *Thromb Haemost* 2004; 92: 140-150 [PMID: 15213855 DOI: 10.1160/TH03-07-0491]
  11. Al-Massarani G, Vacher-Coponat H, Paul P, Arnaud L, Loundou A, Robert S, Moal V, Berland Y, Dignat-George F, Camoin-Jau L. Kidney transplantation decreases the level and procoagulant activity of circulating microparticles. *Am J Transplant* 2009; 9: 550-557 [PMID: 19260834 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02532.x]
  12. Early posttransplant changes in circulating endothelial microparticles in patients with kidney transplantation *Transplant Immunology*, Volume 31, Issue 2, Pages 60-64 Zahida Qamri, Ronald Pelletier, Jamison Foster, Sunil Kumar, Hammam Momani, Kyle Ware, Jon Von Visger, Anjali Satoskar, Tibor Nadasdy, Sergey V. Brodsky
  13. Qamri Z, Pelletier R, Foster J, Kumar S, Momani H, Ware K, Von Visger J,

- Satoskar A, Nadasdy T, Brodsky SV. Early posttransplant changes in circulating endothelial microparticles in patients with kidney transplantation. *Transpl Immunol* 2014; 31: 60-64 [PMID: 25008980 DOI: 10.1016/j.trim.2014.06.006]
14. Hogan MC, Johnson KL, Zenka RM, Cristine Charlesworth M, Madden BJ, et al. (2014) Subfractionation, characterization, and in-depth proteomic analysis of glomerular membrane vesicles in human urine. *Kidney Int* 85: 1225–37.
15. du Cheyron D, Daubin C, Poggioli J, Ramakers M, Houillier P, Charbonneau P, Paillard M. Urinary measurement of Na/H ex-changer isoform 3 (NHE3) protein as new marker of tubule injury in critically ill patients with ARF. *Am J Kidney Dis* 42: 497– 506, 2003.
16. Marsden PA (2003) Predicting outcomes after renal transplantation—new tools and old tools. *N Engl J Med* 349: 182–184. Loverre A, Capobianco C, Ditunno P, Battaglia M, Grandaliano G, et al. (2008)
17. Increase of proliferating renal progenitor cells in acute tubular necrosis underlying delayed graft function. *Transplantation* 85: 1112–1119.
18. Dimuccio V, Ranghino A, Pratico ` Barbato L, Fop F, Biancone L, et al. (2014) Urinary CD133+ Extracellular Vesicles Are Decreased in Kidney Transplanted Patients with Slow Graft Function and Vascular Damage. *PLoS ONE* 9(8): e104490. doi:10.1371/journal.pone.0104490
19. Viñuela-Berni, Doníz-Padilla, Figueroa-Vega, Portillo-Salazar, Abud-Mendoza, Baranda L, González-Amaro R. Proportions of several types of plasma and urine microparticles are increased in patients with rheumatoid arthritis with active disease. *Clin Exp Immunol*. 2015 Jun;180(3):442-51. doi: 10.1111/cei.12598



20. Richard H. Browne. On the use of a pilot sample for sample size determination. *Statistics in medicine* Vol 14, 1933-1940 (1995).
21. Carmona, A. Aguera, ML. Luna-Ruiz, C. et al. Markers of endotelial damage in patients with chronic kidney disease on hemodialysis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017. 312: F673–F681,
22. Boilard, E. Duchez, AC. Brisson, A. The diversity of platelet microparticles. *Curr Opin Hematol* 2015, 22:437–444.
23. Tókéş-Füzesi, M. Woth, G. Ernyey, B. et al. Microparticles and acute renal failure in septic patients. *Journal of Critical Care* (2013) 28, 141–147.
24. Souza, AC. S.T. Yuen, P. Star, RA. Microparticles: markers and mediators of sepsis-induced microvascular dysfunction, immunosuppression and AKI. *Kidney International* (2015) 87, 1100–1108; doi:10.1038/ki.2015.26
25. Al-Massarani, G. Vacher-Coponat, H. Paul, P. et al. Impact of Immunosuppressive Treatment on Endothelial Biomarkers After Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2008; 8: 2360–2367.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Facultad de Medicina  
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en Nefrología